



## 저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

생활과학석사 학위논문

추출 조건에 따른  
더치커피 (Dutch coffee) 의  
이화학적, 관능적 특성 및  
저장 중 특성 변화 연구

A Study on Physicochemical and Sensory  
Characteristics of Dutch Coffee Depending  
on Different Extraction Conditions and  
Changes of Characteristics during Storage

2014년 8월

서울대학교 대학원

식품영양학과

소윤지

## 국문초록

본 연구에서는 더치커피의 추출 조건에 따른 이화학적, 관능적 특성을 살펴보고, 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성 및 항산화 활성 등의 변화를 알아보았다.

### 1. 더치커피의 추출 속도 및 추출 온도에 따른 이화학적, 관능적 특성 및 항산화 활성

더치커피는 추출 온도가 높을수록 산도, 고형분, 갈색도, 총 페놀의 함량과 항산화 활성이 높았고( $p < 0.05$ ), 추출 속도가 빠를수록 그 함량과 활성이 낮았으나 유의적이지 않았다. 그 밖에 드립커피, 80% 메탄올추출물, 진탕추출물은 차례로 추출 효율이 낮아 대체적으로 값이 낮았고, 드립커피의 항산화 활성은 더치커피와 비슷하였다. Chlorogenic acid (GCA), quinic acid (QA), caffeine의 함량은 추출 온도와 비례하였고, 추출 속도 간의 차이는 보이지 않았다. 진탕추출물의 경우 드립커피와 비슷하거나 조금 더 높게 나타났다. 휘발성 성분은 총 35가지를 동정하였으며 피크의 전체 면적은 추출 온도가 낮을수록, 추출 속도가 빠를수록 넓었고, 주로 분자량이 작고 휘발이 잘되는 성분들이 주를 이루었다. 관능평가 결과 대체적으로 추출 시간 및 온도에 따른 차이는 없었고, 더치커피는 드립커피에 비해 쓴 향, 와인 향, 느끼한 맛, 쓴맛 등 총 8가지 항목에서 유의적으로 낮아 전반적으로 마일드하며 기름지지 않다고 평가되었다.

### 2. 추출 및 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성 및 항산화 활성의 변화

pH와 산도는 저장 온도가 높을수록 각각 감소, 증가 폭이 컸으며, 추출 온도보다 저장 온도의 영향력이 더 컸다. 저장기간이 길어짐에 따라 기타 이화학적 특성과 항산화 활성에 변화가 있었으나 전반적으로 변화량이 크지 않았다. 그 밖에 CGA lactone와 CGA의 가수분해에 의해 CGA와

QA, caffeic acid(CA)의 함량은 증가하였으나, caffeine은 감소하였다. 4℃와 20℃에서 8주간 저장하는 동안 일반세균은 1 CFU/mL 미만으로 검출되었고, 대장균은 모두 음성이었다.

더치커피의 추출 시 추출 조건에 따른 관능적 차이가 크지 않기 때문에 짧은 시간동안 추출하는 것이 효율적이며 항산화 활성을 높이기 위해서는 상온에서, 휘발성 성분의 손실을 줄이기 위해서는 저온에서 추출하는 것이 바람직하다. 또한 저장과 관련하여 다양한 특성들의 변화를 통해 더치커피의 저장 특성을 이해하고 이후 유통 및 음용 가능한 기간을 설정하는데 기초자료서의 역할을 할 것으로 기대한다.

**주요어 :** 더치커피, 추출 조건, 저장 기간, 항산화 활성, 휘발성 성분  
**학 번 :** 2012-21493

# 목 차

국문 초록 .....	i
목차 .....	iii
표 목차 .....	vii
그림 목차 .....	ix
 I. 서론 .....	 1
 II. 본론 .....	 4
 1. 더치커피의 추출 속도 및 추출 온도에 따른 이화학적, 관능적 특성 및 항산화 활성	
1.1 실험 재료 및 시료준비 .....	4
1.1.1 실험 재료 .....	4
1.1.2 추출 기구 .....	6
1.1.2.1 더치커피 .....	6
1.1.2.2 드립커피 .....	6
1.1.3 추출 방법 .....	8
1.1.3.1 더치커피 .....	8
1.1.3.1.1 더치커피의 추출 방법 .....	8
1.1.3.1.2 더치커피의 추출 조건 .....	9
1.1.3.2 드립커피 .....	11
1.1.3.3 기타 추출 .....	11
1.2 실험 방법 .....	12
1.2.1 이화학적 특성 .....	13
1.2.1.1 pH 및 총산도 .....	13
1.2.1.2 갈색도 .....	13
1.2.1.3 고형분 함량 .....	13

1.2.1.4 총 페놀 함량 .....	14
1.2.2 항산화 활성 측정 .....	15
1.2.2.1 ABTS 자유 라디칼 소거 활성능 .....	15
1.2.2.2 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능 .....	15
1.2.3 HPLC를 이용한 주요 성분 정량 .....	16
1.2.3.1 주요 유기산 및 caffeine 함량 측정 .....	16
1.2.4 HS-GC-MS를 이용한 휘발성 성분의 정성 분석 .....	18
1.2.4.1 시료 전처리 .....	18
1.2.4.2 HS-GC-MS의 분석 조건 및 데이터베이스 .....	18
1.2.5 관능평가 .....	20
1.2.5.1 IRB 심의 .....	20
1.2.5.2 패널 모집 및 선발 .....	20
1.2.5.3 패널 훈련 및 향미 용어 수집 .....	22
1.2.5.4 관능평가 .....	22
1.3 통계처리 .....	23
 2. 추출 및 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성 및 항산화 활성 의 변화	
2.1 실험 재료 및 시료준비 .....	24
2.1.1 실험 재료 .....	24
2.1.2 시료 준비 .....	24
2.1.3 저장 조건 및 기간.....	24
2.2 실험 방법 .....	26
2.2.1 이화학적 특성 측정 .....	26
2.2.2 항산화 활성 측정 .....	26
2.2.3 HPLC를 이용한 주요 성분 정량 .....	26
2.2.4 미생물 수 측정 .....	27
2.2.4.1 일반세균수 측정 .....	27
2.2.4.2 대장균수 측정 .....	27

2.3 통계처리 .....	29
III. 실험결과 및 고찰 .....	29
1. 더치커피의 추출 속도 및 추출 온도에 따른 이화학적, 관능적 특성 및 항산화 활성	
1.1 이화학적 특성 측정 .....	29
1.1.1 pH 및 총산도 .....	29
1.1.2 갈색도 .....	31
1.1.3 고형분 함량 .....	31
1.1.4 총 페놀 함량 .....	33
1.2 항산화 활성 .....	35
1.2.1 ABTS 및 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능 .....	35
1.3 HPLC를 이용한 주요 성분 정량 .....	37
1.3.1 주요 유기산 및 caffeine 함량 .....	37
1.4 HS-GC-MS를 이용한 휘발성 성분의 정성 분석 .....	39
1.5 관능평가 .....	45
1.5.1 추출 온도 및 추출 속도 변화에 따른 향미의 강도 변화 ...	45
2. 저장 기간에 따른 더치커피의 이화학적, 미생물학적 특성 변화	
2.1 이화학적 특성 측정 .....	48
2.2.1 pH 및 총산도 .....	48
2.2.2 갈색도 및 고형분 함량 .....	50
2.2.3 총 페놀 함량 .....	51
2.2 항산화 활성 .....	53
2.2.1 ABTS 자유 라디칼 소거 활성능 .....	53
2.2.2 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능 .....	53
2.3 주요 기능성 성분 .....	55
2.3.1 주요 유기산 및 caffeine 함량 .....	55

2.4 미생물 수 및 대장균수 .....	58
IV. 요약 및 결론 .....	59
V. Appendix .....	61
VI. 참고문헌 .....	65
Abstract .....	70

#### 용어 약어

CGA: chlorogenic acid

CA: caffeic acid

QA: quinic acid



## 표 목차

Table 1. Roasting conditions of coffee bean (Ethiopia Yirgacheffe G2) .....	5
Table 2. Devices of Dutch coffee extracting instrument and paper filter .....	7
Table 3. Operating condition of HPLC for quantification of coffee in different extraction condition .....	17
Table 4. Operating conditions of GC-MS for the analysis of volatile compounds .....	19
Table 5. Four basic tastes for screening panelists .....	21
Table 6. Process for training panelists and sensory evaluation .....	21
Table 7. Extraction and storage temperature of Dutch coffee .....	25
Table 8. pH and titratable acidity of Dutch coffee depending on different extraction conditions .....	30
Table 9. Brown color and solid content of Dutch coffee in different extraction conditions .....	32

Table 10. Several organic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee in different extraction conditions .....	38
Table 11. Profiles of volatile compounds in Dutch coffee using HS-GC-MS .....	41
Table 12. Major flavor compounds identified in Dutch coffee and drip coffee .....	42
Table 13. Relative ration of volatiles area in spectrum of HS-GC-MS .....	44
Table 14. Scores of sensory attributes of Dutch coffee and drip coffee evaluated by twelve trained panelists .....	46
Table 15. Change in total phenolic content ( $\mu\text{M GAE/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	52
Table 16. Chlorogenic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	56
Table 17. Caffeic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	56
Table 18. Quinic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	57
Table 19. Caffeine content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	57

## 그림 목차

Figure 1. The extraction processes of Dutch coffee .....	8
Figure 2. Changes in temperature of water supply and extracted Dutch coffee at 20°C incubator .....	10
Figure 3. Samples of Dutch coffee in different extract conditions .....	10
Figure 4. Samples of Dutch coffee and other extract in different extraction conditions .....	12
Figure 5. Total phenolics content of Dutch coffee in different extraction conditions .....	34
Figure 6. ABTS and DPPH free radical scavenging activity of Dutch coffee in different extraction conditions .....	36
Figure 7. Proportion of detected volatile compounds in Dutch coffee .....	44
Figure 8. Changes in pH of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	48
Figure 9. Changes in titratable acidity(citric acid %) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	48

Figure 10. Changes in brown color (420 nm) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	50
Figure 11. Changes in solid content(%, w/w) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions .....	50
Figure 12. ABTS free radical scavenging activity of Dutch coffee under different extraction and storage conditions ...	54
Figure 13. DPPH free radical scavenging activity of Dutch coffee under different extraction and storage conditions ...	54
Appendix A. The document for recruiting sensory evaluation panels .....	61
Appendix B. Dutch coffee flavor list .....	62

# I. 서론

흰색 컵받침과 흰색 잔 그리고 그 안에 담긴 짙은 갈색의 뜨거운 액체는 커피가 가지는 상징적인 이미지 중 하나이다. 커피는 일반적으로 원두를 갈아 뜨거운 물로 우려낸 향이 진한 음료를 의미한다. 전 세계적으로 통용되는 기호식품의 하나인 커피는 강렬한 향과 이미지에 걸맞게 소비되는 양 또한 적지 않으며, 미국인들이 마시는 음료 중에서 커피가 향산화물질의 가장 주요한 공급원 역할을 한다(Pellegrini et al. 2003; Vinson et al. 2005).

커피는 다양한 방법으로 추출할 수 있으며 추출 방식은 크게 1)분쇄한 원두와 물을 일정시간 동안 정치(定置)한 후 필터로 걸러내는 방식과 2) 물을 일정한 속도로 공급하여 흘려주는 방식으로 나뉜다(Peters 1991). 담금(steeeping), 달임(decoction, boiling)법이 정치하여 추출하는 방법이며, 침출(percolation), 드립여과(drip filtration), 진공여과(vacuum filtration), 기압주입(pressurized infusion)법이 물을 흘려주어 추출하는 방법이다(Scott 2008). 일반적인 추출방법과 달리 더치커피(Dutch coffee)는 낮은 온도에서 추출하기 때문에 신맛이 적고 특유의 향과 맛을 가지고 있어(황 등 2013), 최근에 많은 관심과 함께 소비가 증가하는 추세이다. 또한 다른 커피와 달리 원액상태로 저장이 가능하기 때문에 판매 상품으로서의 가치도 높다. 더치커피는 드립여과법과 같이 분쇄한 원두를 용기에 담아 추출하지만, 물의 온도가 상온 또는 그 이하이고 추출시간이 긴 것이 특징이다. 찬물과 분쇄한 원두를 함께 섞어 여러 시간 정치한 후 필터로 걸러서 만들기도 한다(林 et al. 2009). 최근 블로거들 사이에서도 홈카페(일명 집에서 커피를 즐기는 방식)에서 더치커피의 맛을 즐기기 위해 특별한 기구가 필요하지 않은 상기의 방식을 이용하기도 한다.

더치커피의 기원과 유래에 관한 정설은 존재하지 않으나 일반적으로 알려진 바에 의하면 네덜란드사람들이 인도네시아에 커피나무를 이식한 후 자바 섬에서 커피 재배가 시작되었는데, 커피 녹병으로 인해 병충해에 강

한 로부스타종의 재배가 주를 이루었다고 한다. 로부스타종은 병충해에 강한 대신 향이 적고 강한 맛을 가지고 있기 때문에 강한 맛을 줄이고 음용하기 쉽게 하고자 네덜란드 상인들이 고안해낸 방법이 현재의 더치커피가 되었다고 알려져 있다. 더치커피라는 용어는 일본사람들이 붙인 말로 일본어로는 ダッチ・コーヒー 라고 하며, 영어로는 주로 cold brew, cold press라는 명칭이 사용되고 있다. 기존의 드립여과 방식은 뜨거운 물을 이용해 상대적으로 짧은 시간동안 추출하며, 더치커피는 방식은 같으나 높은 온도의 물을 사용하지 않기 때문에 추출의 효율을 높이기 위해서 여러 시간동안 물을 공급하며 추출하며 추출 시간은 보통 세 시간 이상으로 한다(레저산업진흥연구소 2008; 허와 허 2009).

최근 국내시장에서 더치커피의 수요 및 공급이 급격하게 증가하고 있다. 수요에 대한 자료는 제시된 바 없으나 커피전문점에서 에스프레소 커피와 함께 더치커피를 판매하는 곳을 쉽게 찾아볼 수 있으며 온라인상에서도 더치커피만 판매하는 사이트의 개설이 증가하고 있다. 더치커피의 상품가치 상승은 특허와 상표 등의 등록 현황으로 살펴볼 수 있는데, 현재 국내의 더치커피와 관련하여 출원 혹은 등록된 특허실용은 27건, 디자인은 20건, 상표는 71건으로 나타났다(KIPRIS, 검색: 2014.6). 특허실용은 주로 2012년부터 등록되기 시작하였고 상표는 2013년부터 등록 건수가 급격하게 증가하였으며, 최근에는 편의점에서 희석된 형태의 RTD(ready-to-drink) 제품이 출시되기도 하였다.

한편 더치커피와 관련된 학술 논문은 매우 미흡한 실정이나 황 등 (2013)에 따르면 4℃에서 추출한 더치커피는 추출 시간에 따라서 페놀 함량 및 기타 성분들의 함량과 항산화 활성이 낮아진다고 하였다. 또한 추출 온도가 낮음에도 조지방과 카페인 함량이 적지 않다는 연구 결과를 보여주었다. 그러나 추출 속도 및 온도 조건에 있어 편차가 있기 때문에 다양한 조건에서 추출된 더치커피에 대한 연구가 선행될 필요가 있다. 또한 뜨거운 물로 추출한 커피와 달리 더치커피는 일반적으로 추출 후 원액상태로 일정기간 저장하며 음용하는 것이 보편적이다. 하지만 저장의 가능성 및 저장에 따른 품질 변화에 대해 알려진 바가 거의 없기 때문에 이와 관련된 연구가 필요한 실정이다. 이에 본 연구에서는 추출 조건의

중심이 되는 추출 온도 및 추출 속도에 따른 더치커피의 특성을 알아보고자하였고, 저장하며 음용하는 특성에 대한 분석을 위해 저장 온도 및 저장 기간에 따른 이화학적인 특성 분석 및 미생물학적 특성에 대한 분석을 수행하고자 하였다.

## II. 본론

### 1. 더치커피의 추출 속도 및 추출 온도에 따른 이화학적, 관능적 특성 및 향산화 활성

#### 1.1. 실험 재료 및 시료준비

##### 1.1.1 실험 재료

본 실험에서는 아라비카종인 2013년산 에티오피아의 예가체프 코케 지방에서 재배된 G2 등급의 커피콩(Ethiopian Yirgacheffe G2)을 사용하였다. 습식법(wet method)의 가공과정을 거친 생두를 다음 Table 1에 제시된 기구 및 방법에 따라 풀 시티(full city)로 로스팅(roasting)하였다. 로스팅 후의 원두는 이산화탄소를 배출할 수 있는 밸브(de-gassing valve)가 달린 포장지에 담아 지퍼 백에 넣어 질소를 충전한 후  $-72^{\circ}\text{C}$  이하에 보관하였다. 원두는 로스팅 후 지속적으로 품질이 감소하기 때문에 최소한의 품질변화를 위해 일주일 이내에 사용하였다. 원두의 분쇄는 Daniel(2005)에 따라 평균  $800\mu\text{m}$ 가 되도록 조정하여 추출 직전에 grinder(Baratza encore, Italy)로 분쇄(20 step)한 후 사용하였다.



Table 1. Roasting conditions of used coffee beans (Ethiopia Yirgacheffe G2)

Category	Conditions
Roasting machine	Shop roaster THCR-06 (Model AB-06, Work capacity: 2-9kg, Taehwan, Korea)
Degree of roast	Full city (color: medium dark brown)
Initial temp.	230°C
input temp.	200°C
Turning point	72°C
2 <sup>nd</sup> crack point	221°C
Roasting time	15 min

### 1.1.2 추출 기구





#### 1.1.2.1 더치커피

더치커피의 추출은 세척이 용이하지 못한 나선관이 없는 전용기구 (1liter triple, Mikacoffee, Korea)를 선택하여 사용하였다. 공급하는 물과 기구의 온도를 일정하게 맞추기 위해서 항온수조(Model BS-31, JEIO TECH, Korea)와 저온이 가능한 인큐베이터(VB-150B, Vision Biotech, Korea)를 사용하였다. 일정한 유속을 위해 연동운동이 가능한 튜브(Masterflex peroxide-cured silicone, L/S 25, HV-96400-25, Cole-Parmer Intl., USA)와 연동펌프(peristaltic pump) [Model WIZ, ISCO, USA]를 이용해 물을 공급하였다. 추출 기구 및 필터(NV-56RF, NUVO, Korea)의 역할과 용도는 Table 2에 그림과 함께 간략히 설명하였다.

#### 1.1.2.2 드립커피

드립커피의 추출은 자동 드립식 커피 메이커(KF 550 Aroma Passion, BRAUN, Germany)를 이용하였다. 물 공급 이후 ON 버튼을 누르면 약 5분간 물이 끓어올라 추출되는 방식으로, 추출되는 커피의 온도는 약 95℃이다.

Table 2. Devices of Dutch coffee extracting instrument and paper filter

	Devices	Usage
	Water pot	Water supply
	Filter paper	Filter
	Coffee container	Ground coffee container
	Server	Coffee extract server

### 1.1.3 추출 방법

#### 1.1.3.1 더치커피

##### 1.1.3.1.1 더치커피의 추출 방법

원두는 추출 직전에 그라인더로 분쇄하였고 coffee container에 원형 종이 필터를 깔고 최소한의 물로 적셔준 후에 분쇄한 커피 60 g을 담았다. 고루 담은 후 320 g의 temper를 이용해 중력의 힘으로 골고루 눌러 주었다. 탬핑한 원두 위에 다시 원형 종이 필터를 깔고 적시기(pre-wetting)를 위해 60 mL의 물을 부어준 후 5분 후에 일정량의 속력으로 540 mL의 물을 흘려보내주었다. 공급한 물은 음용수(Chungho, Korea)를 이용하였으며, 다른 조건 변화에 상관없이 분쇄한 원두 60 g에 물 600 mL의 비율로 더치커피를 추출하였으며 추출과정을 간략하게 나타내면 Figure 1과 같다.



Figure 1. The extraction processes of Dutch coffee

#### 1.1.3.1.2 더치커피의 추출 조건

더치커피는 추출 시 공급하는 물의 온도와 주변 온도에 영향을 받는다. 주변 온도를 20℃로 맞춘 후 4℃의 물을 공급하여 더치커피를 추출하면 공급하는 물과 추출된 커피의 온도는 다음 Figure 2와 같이 변화한다. 추출된 더치커피는 공급되는 물 보다 주변 온도의 영향력이 더 크기 때문에 추출 온도는 공급하는 물 뿐만 아니라 주변 온도도 일정하게 유지해야 한다. 따라서 더치커피의 추출 온도는 공급하는 물의 온도와 주변 온도 모두에 동일하게 적용하였다.

더치커피의 추출 온도는 4℃ (low temp.)와 20℃ (room temp.)로 나누었고, 추출 속도는 1 mL/min, 2 mL/min, 3 mL/min 세 가지로 선정하였다. 흘러주는 물의 총 양은 같기 때문에 추출 속도에 따라 추출 시간이 3시간, 4시간 30분, 9시간으로 차이가 있었고, 물 공급을 중단 한 후에는 30분간 방치하여 여분의 물이 중력의 힘에 의해 흘러나오도록 하였다. 기구 간의 차이를 보정하기 위해 2반복 추출하여 1반복 시료로 사용하였고, 3일간 반복 추출하여 일간의 차이를 보정하였다. 추출 조건에 따른 더치커피의 시료는 다음 Figure 3에 나타내었다.

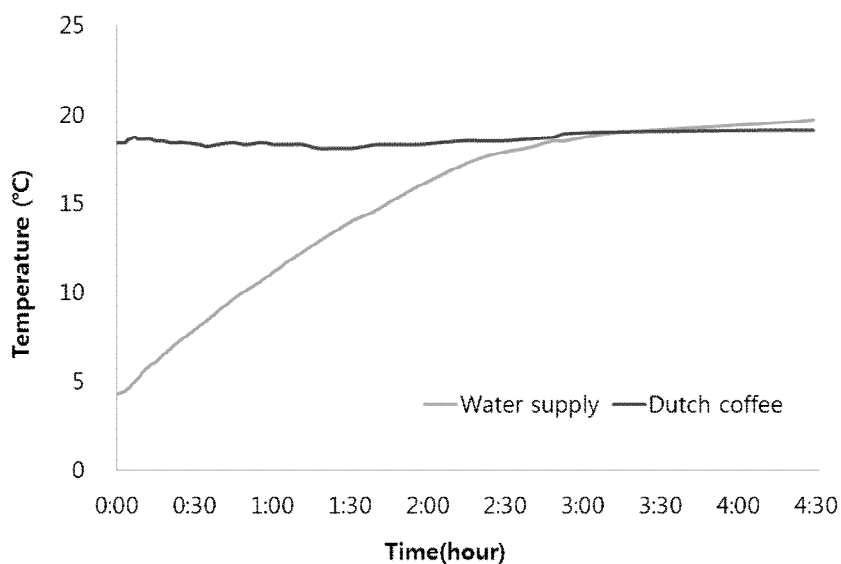


Figure 2. Changes in temperature of water supply and extracted Dutch coffee at 20°C incubator

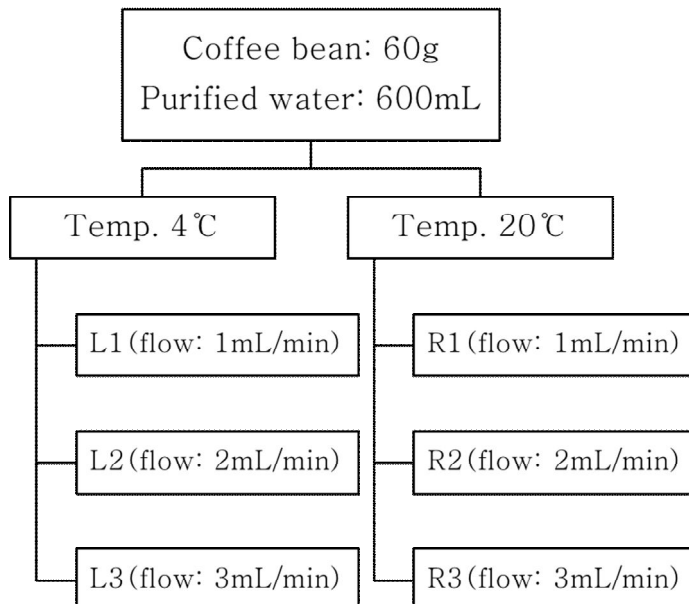


Figure 3. Samples of Dutch coffee in different extract conditions

#### 1.1.3.2 드립커피

드립커피는 ‘1.2 추출기구’중 ‘1.2.2 드립커피’에 제시되어있는 자동 드롭식 커피메이커를 이용해 3반복 추출하였으며, 더치커피의 추출 조건과 동일하게 원두 60 g에 물 600 mL를 넣어서 추출하였다. 추출 시간은 약 5분이 소요되었으며, 추출된 커피의 온도는 약 95℃이었다.

#### 1.1.3.3 기타 추출

기타 추출은 80% 메탄올과 3차 증류수를 이용하였고, 원두와 용매 또는 증류수의 비율은 더치커피와 동일하게 적용하였다. 총 추출 시간은 더치커피의 세 가지 추출 시간 중 중간 시간(4시간 30분)과 같게 맞추었고 상온에서 shaker(Benchtop Digital Incubated Shaker Model SI-600, JEIO TECH, Korea)로 진탕추출 하였다.

## 1.2. 실험 방법

앞서 기술한 시료들을 도식화하여 나타내면 다음 Figure 4와 같다.

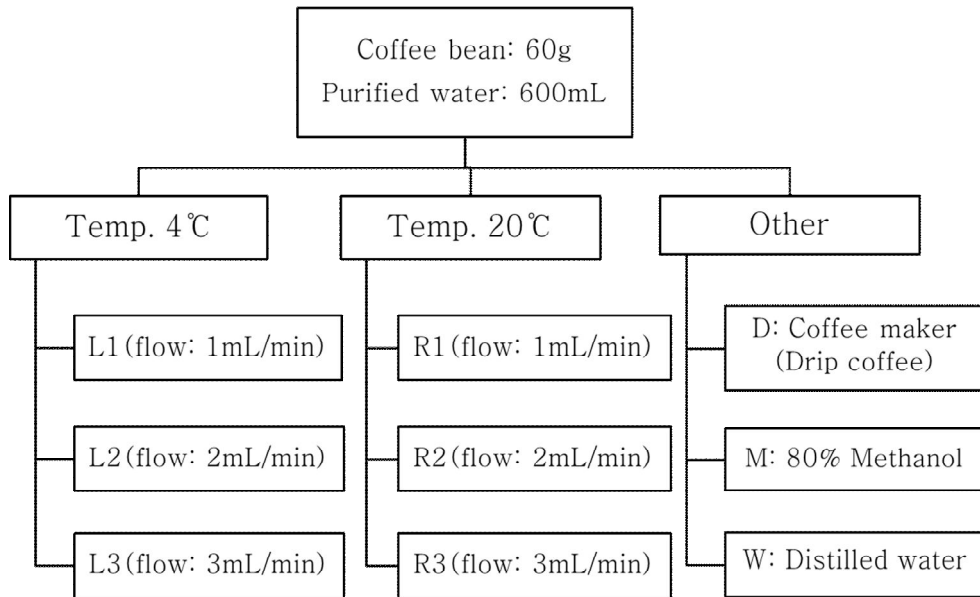


Figure 4. Samples of Dutch coffee and other extract in different extraction conditions



### 1.2.1 이화학적 특성 측정

#### 1.2.1.1 pH 및 총산도

pH는 Digital pH/Ion meter(S20 SevenEasy™ pH meter, Mettler-Toledo Inc., USA)을 이용하여 측정하였고, 각각의 시료는 3 반복 측정한 후 평균값으로 나타내었다. 총산도는 커피 추출액 3 mL를 증류수로 10배 희석한 후 0.1 N NaOH 용액을 가하여 pH가  $8.30 \pm 0.01$  이 될 때까지 소비되는 양(mL)을 측정한 후 다음의 식을 이용하여 Citric acid(%)로 환산하여 표기하였다.

$$\text{Citric acid(\%)} = V \times F \times A \times D \times (1/S) \times 100$$

V: 0.1N NaOH 용액의 적정치 소비량(mL)

F: 0.1N NaOH 용액의 역가

A: 0.1N NaOH 용액 1 mL에 상당하는 유기산(citric acid)의 양

D: 희석배수

S: 시료의 채취량(mL)

#### 1.2.1.2 갈색도

모든 시료는 각각 3차 증류수로 30배 희석하여 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys, Korea)를 이용해 420 nm에서 흡광도 측정하였다.

#### 1.2.1.3 고형분 함량

희석하지 않은 시료를 약 1 g씩 취하여 하루 이상 오븐에서 건조시킨 은박접시에 담아 105℃ 오븐에 넣고 상압 가열 건조법을 이용하여 수분을 증발 시켰다. 24시간 건조 후 항량된 무게를 측정하여 %(w/w)으로 환산하였다.

#### 1.2.1.4 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Giampiero et al.(2009)의 논문에서 사용한 Folin-Ciocalteu 방법을 응용하여 측정하였다. 3차 증류수로 20배 희석한 커피 시료 40  $\mu$ L에 증류수 160  $\mu$ L를 넣고 1 N Folin-Ciocalteu reagent(Sigma Aldrich, USA) 400  $\mu$ L를 가한 후 교반하였다. 교반한 용액에 30%(w/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (Sigma Aldrich, USA) 600  $\mu$ L를 넣어 다시 교반한 후 상온인 암실에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응한 용액 중 1000  $\mu$ L를 cuvette에 담아 분광광도계(Optizen 2010UV, Mecasys, Korea)를 이용하여 765 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 Gallic acid[3,4,5-Trihydroxybenzoic acid](Sigma Aldrich, USA)를 사용하여 0-2.0 mM 농도 범위로 용해시켜 표준 검량 곡선을 얻은 후 이를 이용해 시료 1 mL당 mg gallic acid equivalent(GAE)로 환산하여 표기하였다.

### 1.2.2 항산화 활성 측정

#### 1.2.2.1 ABTS 자유 라디칼 소거 활성능

ABTS 자유 라디칼을 이용한 항산화 활성을 측정은 Kim et al.(2002)에서 사용한 방법을 응용하여 측정하였다. 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4, PBS)를 용매로 하여 1.0 mM AAPH(2,2'-azobis(2-methylpropionamidine) dihydro-chloride, Sigma Aldrich, USA)와 2.5 mM ABTS(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma Aldrich, USA)를 제조한 후, 1:1로 섞어 70℃ 항온수조에서 1시간정도 반응시켜 ABTS 자유 라디칼을 생성하였다. 37℃까지 식힌 후 734 nm 파장에서 흡광도 값이  $0.65 \pm 0.01$ 가 되도록 PBS를 가하여 조정하여 사용하였다. 시료는 3차 증류수로 각각 50, 100배 희석하여 준비하였고, AAPH/ABTS 980  $\mu$ L에 각각의 시료 20  $\mu$ L를 가하여 37℃에서 10분간 반응 시킨 후 980  $\mu$ L를 큐벳에 담아 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid, Sigma Aldrich, Korea)를 이용하여 0-1.0 mM 범위의 표준 검량 곡선을 얻어 커피 시료 1 mL당 trolox equivalent(TE)로 나타내었다.

#### 1.2.2.2 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능

DPPH 자유 라디칼 소거 활성능은 Brand-williams et al.(1995)의 방법을 응용하여 측정하였다. 3차 증류수로 각각 50, 100배 희석한 시료 160  $\mu$ L에 0.2 mM DPPH( $\alpha, \alpha$ -diphenyl-picrylhydrazyl, Sigma Aldrich, USA)용액 640  $\mu$ L를 가하여 실온의 암실에서 30분간 반응시켰다. 반응시킨 용액은 200  $\mu$ L씩 96well에 담아 microplate reader (SpectraMax 190, Molecular Devices, USA)로 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 자유 라디칼 활성능과 비교하기 위하여 시료 1 mL 당 TE로 환산하여 나타내었다.

### 1.2.3 HPLC를 이용한 주요 성분 정량

#### 1.2.3.1 주요 유기산 및 caffeine 함량 측정

Chlorogenic acid(CGA), quinic acid(QA), caffeic acid(CA), caffeine의 함량을 정량하기 위해 모든 시료는 균질하게 섞은 후 3차 증류수로 4배 희석하여 0.45  $\mu\text{m}$  hydrophilic syringe filter(Advantec MFS, Japan)로 여과하여 사용하였다. 분석 조건은 이(2004)가 사용한 방법을 응용하여 설정하였다(Table 3). 각 화합물의 정량을 위해 사용한 D-(-)-QA, CA, caffeine(anhydrous, purum)는 Sigma Aldrich(USA)에서 구매하였고 CGA(Primary reference standard)은 HWI Analytic GMBH(Germany)에서 구매하였다. QA와 CGA는 0–500  $\mu\text{g/mL}$ , CA는 0–50  $\mu\text{g/mL}$  농도 범위에서 표준곡선을 작성해 그 함량을 계산하였다.

Table 3. Operating conditions of HPLC for quantification of samples in different extraction condition

Category	Condition
Model	Dionex, summit HPLC(P680 pump, ASI- 100 Injector, UVD 430U detector)
Column	X-Terra RP C18(4.6×250 mm, 5 µm, Waters, Ireland)
Mobile phase (isocratic)	Acetonitrile : 10 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (10:90, V/V)
Flow rate	0.9 mL/min
Injection volume	20 µL
Temperature	column and sample: room temperature
Detection time	30 min
Wavelength	205 nm(quinic acid)
	274 nm(caffeine)
	325 nm(chlorogenic acid, caffeic acid)

#### 1.2.4 HS-GC-MS를 이용한 휘발성 성분의 정성 분석

##### 1.2.4.1 시료 전처리

휘발성 성분을 분석하기 위한 시료는 전용 vial(20 mL, screw thread vial, Perkin Elemer, USA)에 더치커피 5 mL를 담고, 휘발성 물질이 더 많이 증발할 수 있도록 부분압을 높이기 위해  $1.0 \pm 0.01$  g의 NaCl(Samchun chemical, Korea)을 첨가하였다(Bruno and Leslie 1997; Naddaf and Balla 2000).

##### 1.2.4.2 HS-GC-MS의 분석 조건 및 데이터베이스

휘발성 성분의 정성분석에 사용된 기기인 Headspace/ Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer(HS-GC-MS, Clarus680/600T, Perkin Elmer, USA)의 상세한 분석 조건 및 데이터베이스(library software)는 다음 Table 4와 같다. 시료의 손실 없이 즉각 시료를 채취하여 분석하기 위해 HS를 사용하였고, 실제 음용하는 것과 비슷한 조건에서 휘발되는 성분을 알아보기 위해 HS의 오븐온도를 가장 낮은 온도인 35℃로 설정하였다. Peak는 S/N(Signal to noise)의 값이 20 이상인 것만 선택하여 여러 가지 데이터베이스의 질량 스펙트럼과 비교 분석하였다.

Table 4. Operating conditions of HS–GC–MS\* for the analysis of volatile compounds

Instrument	Conditions
HS	<p>Needle: 105°C</p> <p>Transfer line: 150°C</p> <p>Oven: 35°C, 30 min shaking</p> <p>Pressurizer: 4.0 min</p> <p>Inject: 0.5 min</p>
GC	<p>Column: VOCOL column (Supelco 60 m×0.25 mm, 1.5 µm film thickness)</p> <p>Oven: 40°C for 3 min 4°C/min to 230°C 230°C for 5 min.</p> <p>Flow: 1 mL/min</p> <p>Injector: 150°C, split 3:1</p>
MS	<p>Mass range: 35–350 Da</p> <p>Transfer line: 250°C</p> <p>Ion source: 250°C</p> <p>Software : TurboMass (Perkin Elmer Co., USA), NIST 11 Library (NIST, USA)</p> <p>Acquisition : MS scan (EIC** mode)</p> <p>Analyzer : Quadrupole Single MS–PMT (Photomultiplier detector)</p> <p>Ion Source : Electron Ionization (EI)</p>

\*HS–GC–MS: headspace–gas chromatograph–mass spectrometer

\*\*EIC: extracted ion chromatogram

### 1.2.5 관능평가

#### 1.2.5.1 IRB 심의

본 연구는 개인 식별 정보를 수집·기록하지 않으며, 건강인을 대상으로 판매 등이 허용되는 식품 또는 식품첨가물을 이용하여 맛이나 질을 평가하는 것을 목적으로 한다. 또한 연구대상자를 직접 대면하더라도 연구대상자가 특정되지 않고 「개인정보 보호법」 제 23조에 따라 민감정보를 수집하거나 기록하지 않는 연구이므로 SUNIRB(Seoul National University Institutional Review Board)에서 2014년 4월 28일 면제 승인되었으며 승인번호는 SNUIRB No. E1404/002-004와 같다.

#### 1.2.5.2 패널 모집 및 선발

패널 모집은 서울대학교 식품영양학과 대학원생을 대상으로 모집문건(Appendix A)을 게시하여 공개적으로 이루어졌다. 짧은 관능 훈련기간을 보완하기 위해 관능평가에 경험이 있고, 더치커피를 접해본 사람들을 대상으로 하였고, 패널의 선발은 기본 맛 평가를 통해 선발 하였다(Table 5). 관능훈련 기간은 2주간 총 5일에 걸쳐 실시하였고, 관능평가는 3일에 걸쳐 반복 평가하여 일간의 차이를 줄이고자 하였다(Table 6).



Table 5. Four basic tastes for screening panelists

Taste	Material	Concentration(%, w/w)
Sweetness	Sugar	2
Sourness	Citric acid	0.07
Bitterness	Caffeine	0.07
Saltiness	Salt	0.2

Table 6. Process for training panelists and sensory evaluation

Category	Training of panelists and sensory testing
Screening	Selection of panelists: discrimination tests <ul style="list-style-type: none"> <li>· To repeat ‘paired comparison tests’</li> <li>· To select and define terms using CATA list of</li> </ul>
Training	drip coffee <ul style="list-style-type: none"> <li>· To practice to compare Dutch coffee in different extraction conditions</li> </ul>
Sensory Evaluation	Descriptive analysis: modified QDA(Quantitative descriptive analysis)

#### 1.2.5.3 패널 훈련 및 향미 용어 수집

패널 훈련은 단순차이검사(paired comparison tests)와 순위법(ranking tests)을 이용해 더치커피 시료에 익숙해짐과 동시에 추출 시간에 따른 종합적인 차이를 구분할 수 있게 하였다. 또한 같은 원두를 이용해 추출한 드립커피를 기준으로 평가할 수 있도록 강도를 평가하고 결과를 공유하면서 같은 시료를 비슷하게 평가할 수 있도록 하였다.

더치커피의 향미 용어는 자율적으로 표현한 용어들과 서(2006)가 개발한 드립커피의 향미 용어 리스트를 이용해 CATA(Check-all-that-apply) questions 형식으로 작성하여 더치커피에서 느낄 수 있는 향미 용어를 선택하도록 하였다. CATA questions는 본래 소비자들을 대상으로 특정한 시료 또는 상품의 특성을 파악하기 위해 고안된 평가 방법으로(Dooley et al. 2010), 강도 표시 없이 체크된 용어들을 이용해 시료 또는 상품의 특성을 파악하는 방법이다. 본 관능훈련에서는 공통적으로 선택된 용어를 중심으로 패널들의 평가 부담은 줄이고 평가 가능한 범위로 총 24개의 용어를 선정하였고, 세부적으로는 향미 8가지, 맛 11가지, 입안느낌 및 후미 5가지가 선정되었다(Appendix B). 색은 커피의 양에 따라 상대적으로 편차가 커서 제외하였다.

#### 1.2.5.4 관능평가

관능평가 및 관능평가에 Figure 4와 같이 두 가지 추출 온도(4, 20℃) 및 세 가지 추출 속도(1, 2, 3 mL/min)에 따라 추출한 총 여섯 가지 더치커피를 사용하였다. 추출 조건 차이에 따른 강도는 9점 척도를 이용해 평가하도록 하였고, 드립커피를 기준시료로 주어 드립커피에 대비해 더치커피의 향미 강도를 표시하게 하였다.

### 1.3 통계처리

추출 온도 및 추출 속도에 따른 더치커피의 다양한 특성의 측정값들은 IBM SPSS Statistics 20.0을 이용해 통계분석 하였다. 반복 측정한 값들은 산술평균한 값을 사용하였고, 3반복 추출한 값들로 표준편차를 구하였다. 실험항목에 따라서 6가지 또는 9가지의 다중그룹의 추출 조건에 따른 차이를 검정하기 위해 일원배치 분산분석과 Duncan 사후분석법을 이용해 유의수준 0.05에서 동일 집단군을 구분하였다. 그룹의 구분은 값을 내림차순 하여 알파벳 소문자를 위첨자로 표시하였다.

## 2. 추출 및 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성 및 항산화 활성의 변화

### 2.1. 실험 재료 및 시료준비

#### 2.1.1 실험 재료

커피 원두는 ‘1.1.1 실험재료’와 동일한 조건으로 준비하여 사용하였다.

#### 2.1.2 시료 준비

저장 실험을 위한 더치커피는 ‘1.3.1 더치커피의 추출 방법’에 기술된 것과 동일한 조건에서 추출 속도를 2 mL/min로 고정하고 4℃와 20℃ 두 온도에서 추출하였다. 일간의 오차를 최소화하기 위하여 각각의 온도마다 3일간 연속적으로 반복 추출한 시료를 각각 멸균된 용기에 50 mL씩 나누어 담아 저장하였다.

#### 2.1.3 저장 조건 및 기간

추출 온도와 저장 온도 차이에서 오는 특성의 변화를 통합적으로 알아보기 위해 4℃와 20℃ 두 가지 온도에서 추출한 더치커피를 각각 4℃와 20℃의 인큐베이터(4℃: BI-1000m, JEIO TECH, Korea, 20℃: VB-150B, VisionBiotech, Korea)에 저장하였다. 총 8주간 저장하면서 0, 1, 2, 4, 6, 8주차에 시료를 분석하였으며, 시료의 선정은 단순무작위 표본 추출법(simple random sampling)을 이용하였다.

Table 7. Extraction and storage temperature of Dutch coffee

Classification*	Extraction temp.	Storage temp.
LL	4°C	4°C
LR	4°C	20°C
RL	20°C	4°C
RR	20°C	20°C

\*Temp.: temperature, L: Low temp.(4°C), R: Room temp.(20°C)

## 2.2 실험 방법

### 2.2.1 이화학적 특성 측정

pH, 산도, 갈색도, 고형분, 총 페놀함량의 측정은 ‘1.2.1 이화학적 특성’에 기술한 내용과 동일하다.

### 2.2.2 항산화 활성 측정

ABTS와 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능 측정은 ‘1.2.2 항산화 활성 측정’에 기술한 내용과 같으며, 저장 기간에 따라 측정한 시료는 상기에 기술한 것과 동일하다.

### 2.2.3 HPLC를 이용한 주요 성분 정량

CGA, CA, QA와 caffeine의 함량은 ‘1.2.3 HPLC를 이용한 주요 성분 정량’에 기술한 내용과 같으며, 저장 기간에 따라 측정한 시료는 상기에 기술한 것과 동일하다.

## 2.4 미생물 수 측정

### 2.4.1 일반세균수 측정

일반세균수의 측정은 식품공전(최종개정: 2013.12.31)의 일반시험법에 기술된 내용을 바탕으로 실시하였다. 시료는 멸균생리식염수(0.9 %)로 희석하였고, 배지는 Plate Count Agar/Standard Methods Agar (Tryptone Glucose Yeast Agar, final pH  $7.4 \pm 0.2$ , DB, USA)를 이용해 제조사의 조제법에 따라 조제하였다. 표준 평판법으로 세균 수를 측정하기 위해 희석한 시료 1 mL에 배지를 약 15 mL 분주하여 균일하게 섞은 후 응고시켰다. 세균의 확산 집락 발생을 억제하기 위해 분주 한 후 10분 이내에 다시 배지 약 5 mL를 가하여 중첩시킨 후 응고시켰다. 응고시킨 배지는 거꾸로 하여  $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 인큐베이터에서  $48 \pm 1$ 시간 동안 배양 한 후 집락 수(CFU/mL)를 산정하였다.

### 2.4.2 대장균수 측정

대장균수의 측정은 Petrifilm E. Coli/Coliform Count(3M, USA)를 이용하여 실시하였다. 희석한 시료를 1 mL 필름에 접종한 후 20장 이내로 쌓아서  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 인큐베이터에서  $48 \pm 1$ 시간 동안 배양한 후 관찰하였다.

## 2.3 통계처리

추출 및 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성, 항산화 활성 및 유기산과 caffeine의 함량을 측정값들은 IBM SPSS statistics 20.0을 이용해 통계분석 하였다. 반복 측정한 값들은 산술평균한 값을 사용하였고, 3반복 추출한 값들로 표준편차를 구하였다. 저장 기간에 따른 측정값의 비교는 일원배치 분산분석과 Duncan 사후분석법을 이용해 유의수준 0.05에서 동일 집단군을 구분하였다.



### III. 실험결과 및 고찰

#### 1. 더치커피의 추출 속도 및 추출 온도에 이화학적, 관능적 및 항산화 활성

##### 1.1 이화학적 특성 측정

##### 1.1.1 pH 및 총산도

pH는 20℃보다 4℃에서 추출한 시료에서 5.68–5.72 범위로 더 낮았다(Table 8). 그러나 낮은 온도에서 추출한 시료는 고형분 함량(Table 9)뿐만 아니라 chlorogenic acid(CGA), quinic acid(QA)과 같은 주요 유기산의 함량이 낮게 측정되었다(Table 10). 이와 같은 결과는 추출 시 사용한 물의 pH에 의한 것으로 생각해볼 수 있다. 순수한 물은 온도가 낮을수록 pH가 상승하여 4℃에서는 pH가 약 7.36이며, 20℃에서는 약 7.08로 0.3 정도의 차이를 보인다(Vargaftic et al. 1983). 따라서 pH가 더 높은 온도의 물로 추출하는 경우 분쇄한 원두에 있는 수소 이온( $H^+$ )이 더 쉽게 용출될 수 있기 때문에 최종적으로는 낮은 온도에서 pH가 낮게 나타난 것으로 해석할 수 있다. 한편 Albanese et al.(2009)이 아라비카종 원두의 에스프레소를 90, 100, 110℃에서 추출한 결과, 온도가 낮을수록 pH는 높게 나타나 본 실험 결과와 반대의 경향을 보였다. 이는 추출 온도가 본 실험과 비교할 때 매우 높아 온도에서 오는 영향이 더 크기 때문으로 생각한다. citric acid%로 나타낸 산도는 대체적으로 20℃에서 더 높았지만 모두 유의적인 차이를 보이지 않았고, 20℃에서 가장 빠르게 추출한 시료가 가장 높았다(Table 8). 그 밖에 pH와 산도는 추출 온도뿐만 아니라 그 밖에 로스팅 정도(Lentner and Deatherage 1959), 분쇄 굵기(Voille et al. 1981), 물의 비율(Andueza et al. 2007), 추출 방법(Gloess et al. 2013)등에 따라 변화한다.

Table 8. pH and titratable acidity of Dutch coffee depending on different extraction conditions

	pH	Citric acid(%)
L1 <sup>1</sup>	5.72±0.05 <sup>bc</sup>	0.91±0.07 <sup>b</sup>
L2	5.68±0.04 <sup>c</sup>	0.92±0.03 <sup>b</sup>
L3	5.68±0.02 <sup>c</sup>	0.91±0.03 <sup>b</sup>
R1	5.73±0.04 <sup>ab</sup>	0.96±0.04 <sup>b</sup>
R2	5.77±0.05 <sup>a</sup>	0.97±0.02 <sup>b</sup>
R3	5.79±0.03 <sup>a</sup>	1.01±0.03 <sup>a</sup>

All results are expressed as mean±SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences(p<0.05) in the same column.

<sup>1</sup>L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate(mL/min)

### 1.1.2 갈색도

추출 속도에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 추출 온도가 높을수록 갈색도가 높았다( $p < 0.05$ ) (Table 9). 이는 추출 온도가 높을수록 추출 효율이 증가하기 때문이며, 상대적으로 추출 속도의 영향은 적었다. 드립커피는 더치커피에 비해 상대적으로 높은 온도에서 추출하지만, 총 추출 시간이 짧기 때문에 갈색도가 4℃와 큰 차이를 보이지 않았다. 80% 메탄올추출물과 진탕추출물의 갈색도는 더치커피에 비해 각각 약 75.3%, 55.1% 수준으로 낮았다. 林 et al.(2009)은 다양한 추출 조건에 따른 갈색도를 측정하였는데, 드립커피의 갈색도는 값이 비슷하였으나 찬물에서 담금법으로 추출한 ice-drip의 갈색도는 더치커피의 1/5 수준으로 매우 낮았다. 이 값은 상온에서 진탕 추출한 시료의 절반에도 미치지 않게 낮은 수치였다. 물론 ice-drip이 원두 대비 물의 양이 더치커피보다 1.4배 더 많았고, 정치한 시간이 3-4시간으로 짧았기 때문에 추출 효율 및 그 밖에 다른 측정값들도 낮게 나타난 것으로 사료된다.

### 1.1.3 고형분 함량

고형분 함량은 갈색도와 유사하게 추출 온도가 높을수록 고형분 함량이 높았다(Table 9). 낮은 온도에서 추출한 더치커피의 고형분 함량이 약 0.2% 가량 낮게 나타나 Sivetz and Foote(1963)의 결과와 유사하였다. 추출 속도는 느릴수록 고형분 함량이 높았으나 일부에서만 차이를 보였다. 한편 갈색도와는 다르게 드립커피의 고형분은 20℃에서 추출한 더치커피의 절반정도의 수준이었고, 80% 메탄올추출물과 진탕추출물이 차례로 낮게 나타났다. 한편 고형분 함량 증가는 산도, 갈색도, caffeine의 함량을 증가시키기 때문에(Voille et al. 1981) 다른 측정값에 유사한 영향을 끼쳐 비슷한 경향을 보일 것으로 추측할 수 있었다.

Table 9. Brown color and solid content of Dutch coffee in different extraction conditions

	Brown color (420 nm)	Solid content (%)
L1 <sup>1</sup>	0.34 ± 0.06 <sup>ab</sup>	2.22 ± 0.08 <sup>bc</sup>
L2	0.32 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.15 ± 0.09 <sup>c</sup>
L3	0.31 ± 0.05 <sup>b</sup>	2.18 ± 0.06 <sup>c</sup>
R1	0.38 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.43 ± 0.05 <sup>a</sup>
R2	0.35 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.37 ± 0.02 <sup>a</sup>
R3	0.37 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.34 ± 0.06 <sup>ab</sup>
D	0.32 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.88 ± 0.06 <sup>d</sup>
M	0.26 ± 0.02 <sup>c</sup>	1.75 ± 0.09 <sup>e</sup>
W	0.19 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.96 ± 0.02 <sup>f</sup>

All results are expressed as mean ± SD (standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) in the same column.

<sup>1</sup>L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate (mL/min), D: drip coffee, M: 80% methanolic extract, W: distilled water extract

#### 1.1.4 총 페놀 함량

4℃와 20℃에서 추출한 더치커피의 총 페놀 함량은 각각 16.0–16.4  $\mu$ g/mL, 17.5–19.0  $\mu$ g/mL으로 20℃에서 추출한 더치커피의 함량이 더 높았고(Figure 5) 그 함량은 Kreicbergs et al.(2011)이 다양한 아라비카종 커피를 측정한 결과와 비슷한 수준을 보였다. 그 다음으로 드립커피, 진탕추출물, 80% 메탄올추출물은  $17.0 \pm 0.7$ ,  $13.5 \pm 0.8$ ,  $11.1 \pm 0.4$   $\mu$ g/mL 순으로 낮았다. 한편 Afify et al.(2011)의 연구에서는 caffeine을 함유한 제품인 차와 커피 등을 4℃와 100℃로 추출하여 항산화 활성을 살펴보았는데, 차뿐만 아니라 커피 모두 온도의 차이가 컸음에도 불구하고 총 페놀 함량은 시료 간의 경향성을 나타내지 않았다.

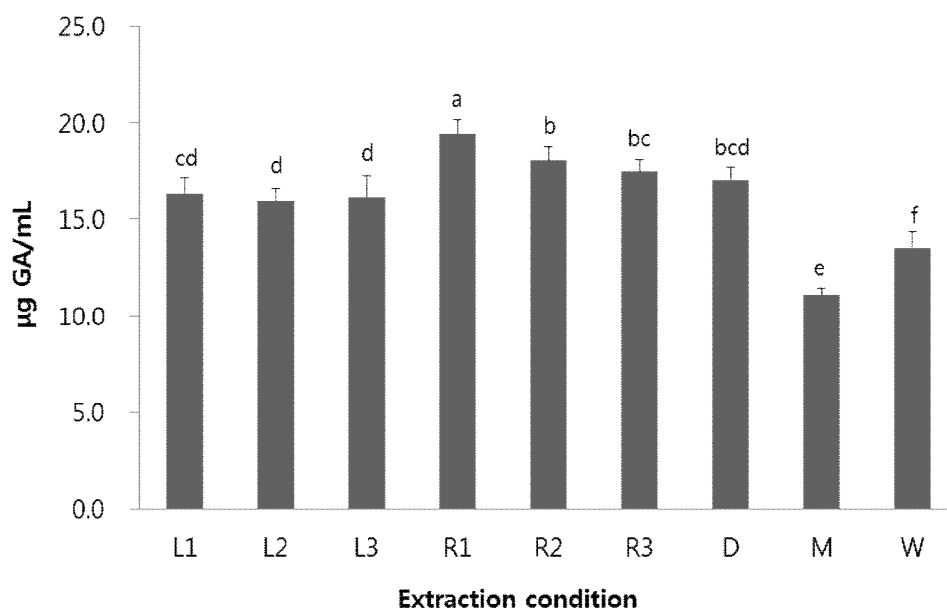


Figure 5. Total phenolics content of Dutch coffee in different extraction conditions

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p < 0.05$ ).

\*L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate(mL/min), D: drip coffee, M: 80% methanolic extract, W: distilled water extract

## 1.2. 항산화 활성

### 1.2.1 ABTS 및 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능

추출 조건에 따른 ABTS와 DPPH의 항산화 활성은 다음 Figure 6과 같다. 모두 20℃에서 가장 높았고, 추출 속도가 빨라질수록 항산화 활성이 감소하였으나 유의적이지 않았다. 드립커피는 4℃에서 추출한 시료와 유사하였고, 그 값은 Ludwig et al.(2012)이 coffee-maker로 추출한 커피의 DPPH 항산화 활성을 측정한 값과 유사하였다. 그밖에 80% 메탄올추출물과 진탕추출물 순서로 항산화 활성이 낮았다. 반면 Afify et al.(2011)이 4℃와 100℃에서 추출한 커피의 DPPH 항산화 활성(%)을 측정한 결과 온도가 높을수록 높았으나, 온도 차이에 의한 활성의 차는 20% 미만으로 낮게 나타났다. 전반적으로 활성 값이 높았기 때문에 농도를 조금 낮추어 실험했다면 차이를 확연하게 볼 수 있었을 것으로 사료된다. 한편 Pellegrini et al.(2003)이 espresso와 Italian Moka coffee machine으로 추출한 커피의 ABTS 항산화 활성을 측정한 결과, 그 값은 45.8-66.0  $\mu\text{mol TE/mL}$ 로 높아 추출 방법에 의한 차이가 확연하게 드러남을 알 수 있었다.

ABTS와 DPPH 자유 라디칼의 소거능을 측정하는 두 실험은 같은 원리로 이루어지지만(Leon-Carmona and Galano 2011), 같은 표준물질을 사용할 때 그 값이 두 배 이상 차이를 보였다. 그 이유는 표준시료의 농도가 같을 때 DPPH 자유 라디칼이 더 큰 폭으로 감소하였기 때문에 차이가 나타난 것으로 보인다.

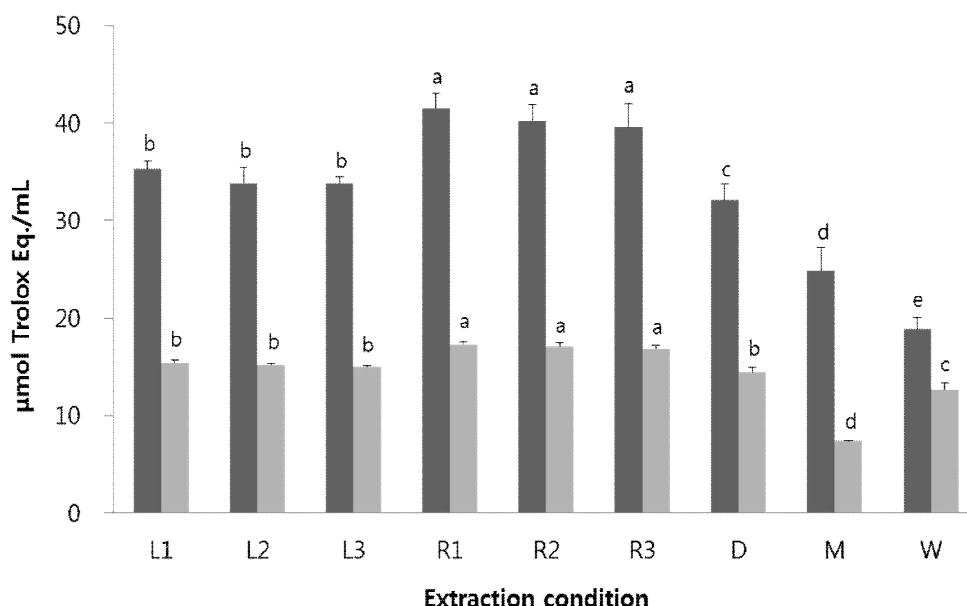


Figure 6. ABTS and DPPH free radical scavenging activity of Dutch coffee in different extraction conditions

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p < 0.05$ ).

\*L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate(mL/min), D: drip coffee, M: 80% methanolic extract, W: distilled water extract



### 1.3. 주요 기능성 성분

#### 1.3.1 주요 유기산 및 caffeine 함량

CGA 함량은 추출 온도에 비례하여 증가하였고, 추출 속도는 느릴수록 많았으나 속도 간의 차이는 유의적이지 않았다(Table 10). 총 페놀 함량과 항산화 활성능과 달리 진탕추출물의 CGA 함량은 드립커피와 비슷하였는데, 이는 CGA가 높은 온도에서 용출되는 속도 증가가 급격하게 일어나기 때문으로 해석할 수 있다. 또한 CGA는 이성질체가 존재하기 때문에 같은 질량의 물질은 분리된 피크를 얻기 어려워 크로마토그램 자체가 다른 피크들과 달리 면적이 넓고 한쪽으로 치우친 피크모양을 나타내었다. 더치커피에 함유된 QA는 추출 온도에 관계없이 비슷한 값을 보였으며, 드립커피와 진탕추출물의 값도 유사하여 다른 물질들에 비해 추출하는 방법에 의한 차이가 적었다. Caffeine의 함량은 20℃ 추출 시료, 4℃ 추출 시료, 드립커피 순으로 높은 값을 보였고, 메탄올추출물과 진탕추출물의 함량이 가장 낮았다(Table 10). Yang et al.(2007)은 다양한 차를 4℃와 25℃에서 0.5-16시간 까지 우린 결과 본 실험의 결과와 유사하게 우린 시간이 증가할수록 CA, catechin, CGA의 함량은 지속적으로 증가하였고 4℃보다 25℃에서 우린 차에 그 함량이 1.08배에서 1.24배까지 높았다.

Table 10. Several organic acid and caffeine content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee in different extraction conditions

	Chlorogenic acid	Quinic acid	Caffeine
L1 <sup>1</sup>	$379.8 \pm 30.4^b$	$308.8 \pm 14.8^a$	$1374.9 \pm 10.1^b$
L2	$369.2 \pm 29.0^b$	$301.9 \pm 6.9^a$	$1362.7 \pm 56.3^b$
L3	$371.0 \pm 18.1^b$	$303.3 \pm 4.3^a$	$1329.4 \pm 28.4^b$
R1	$398.2 \pm 22.6^a$	$295.6 \pm 6.4^a$	$1443.1 \pm 26.4^a$
R2	$388.9 \pm 34.2^a$	$296.0 \pm 14.5^a$	$1425.7 \pm 56.3^a$
R3	$394.7 \pm 19.5^a$	$305.2 \pm 9.6^a$	$1449.8 \pm 29.5^a$
D	$290.2 \pm 14.0^c$	$261.0 \pm 6.9^b$	$1094.9 \pm 21.4^c$
M	$169.7 \pm 16.0^d$	$180.2 \pm 9.0^c$	$892.0 \pm 31.9^d$
W	$295.6 \pm 15.9^c$	$249.1 \pm 10.4^b$	$955.3 \pm 42.3^d$

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p < 0.05$ ) in the same column.

<sup>1</sup>L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate(mL/min), D: drip coffee, M: 80% methanolic extract, W: distilled water extract

#### 1.4 HS-GC-MS를 이용한 휘발성 성분의 정성 분석

여러 가지 데이터베이스를 이용해 휘발성 성분을 정성 분석한 결과 총 35종이 검출 및 분석되었다(Table 11). 정성 분석한 휘발성 성분을 분류해보면 furans 10종, aldehydes 6종, ketones 5종, esters 3종, sulfur compounds 2종, pyrazines 2종, pyrroles 2종, pyridines 1종, thiophenes 1종, others 2종으로 나뉜다. 현재까지 커피에서 휘발성 성분이 천 가지 정도 밝혀졌으나 본 실험에서는 매우 적은 수의 휘발성 성분만 확인되었다. 이는 휘발성 성분을 포집할 때 사용하는 headspace sampler의 오븐 온도를 기기 조건 중 최저 온도인 35℃로 설정했기 때문이다. 그 이유는 정성 분석 결과를 관능평가와 연계하여 분석하기 위해 오븐 온도를 음용하는 조건인 구강 온도와 유사하게 낮추었기 때문이었고, 그 결과 휘발되는 성분의 수와 양이 모두 적었다. 또한 오븐 온도가 낮았기 때문에 분자량이 작고 상대적으로 휘발이 잘되는 물질들이 주로 검출되어 앞 시간에 피크들이 크게 나타났다(Figure 7).

한편 휘발성 성분 포집 시 사용한 headspace 기법은 재현성이 높고 분석 시간이 짧고 및 오차가 적으나 한정된 공간에서 휘발된 성분만 검출이 가능하여 주요 휘발성 성분 이외의 극미량 물질들의 검출이 어렵다(김 등 2006)는 단점이 있다. 대신 시료의 양을 늘리면 더 많은 휘발성 성분을 검출하여 분석이 가능하지만(Bruno and Leslie 1997) 더치커피 시료가 headspace sampler에서 shaking하는 동안 거품이 많이 생성되어 기체를 포집하는 needle을 오염시킬 가능성이 있어 시료의 양을 늘리는데 한계가 있었다.

개별 성분들이 검출된 시간을 기준으로 추출 조건에 따른 더치커피 시료의 피크(peak) 면적 값은 Table 12에 나타내었다. 추출 온도가 낮을수록, 추출 속도가 빠를수록 개별 성분들의 피크 면적이 컸으며, 검출된 피크의 면적 합 또한 개별 물질들의 경향과 유사하였다(Table 13). 즉 휘발성 성분의 양은 4℃에서 빠른 속도로 추출한 시료가 가장 많았고, 20℃에서 느린 속도로 추출한 시료에서 그 함량이 가장 적었다. 그에 비해 드립커피는 휘발성 성분이 더치커피의 약 37% 수준으로 매우 낮아 추출

하는 과정에서 휘발되는 양이 많은 것으로 나타났다. 그러나 본 실험에서 관찰한 성분은 35가지로 한정적이었고, 드립커피는 일반적인 음용 온도보다 검출 온도가 낮았기 때문에 정확하다고 보기는 어렵다. 하지만 휘발성 성분들의 인위적인 휘발을 크게 유도하지 않았고, 입안을 통해 실제 음용하는 조건에서만 비교한다면 드립커피의 휘발성 성분이 적다고 할 수 있다. 검출된 피크들 중 시료에 상관없이 대체적으로 2-methylbutanal, acetic acid methyl ester, 2-methylfuran, furan, 3-methylbutanal, 2-propanone, 2-butanone 순으로 많은 함량을 나타내었다(Table 14).

한편 시료의 전처리 과정에서 염석 효과(salting out)를 위해서 NaCl을 염으로 사용하여 휘발성 물질들이 더 높은 농도로 휘발될 수 있도록 하였는데, 염의 사용은 휘발성 성분들의 용해도를 낮추어 주는 역할을 한다.<sup>1)</sup> 그러나 성분마다 염에 의한 효과가 다르기 때문에 상대적인 비교도 정확하다고 보기는 어렵다. 또한 모든 휘발되는 성분들이 향기성분이 되는 것은 아니고 또한 절대적인 양이 직접적으로 향에 기여하는 것은 아니다(Lopez-Galilea et al. 2006). 향에 직접 관여하는 성분들을 분석하기 위해서는 Gas chromatography-Olfactometry(GC-O) 분석이 추가적으로 필요하겠다.

---

1) Headspace-gas chromatography : theory and practice. 35-39  
(A technical Guide for static HS Analysis Using GC. [www.restek.com](http://www.restek.com))

Table 11. Profiles of volatile compounds in Dutch coffee using HS–GC–MS

Classification	No.	Compounds	Classification	No.	Compounds
Pyrazines	2	2-Methylpyrazine 2,6-Dimethylpyrazine	Pyrroles	2	1-Methyl-pyrrole 1H-Pyrrole
Aldehydes	6	Acetaldehyde 2-Methylpropanal 2-Methylbutanal 3-Methylbutanal Hexanal Butanal	Ketones	6	2-Propanone 2-Butanone 2,3-Pentanedione 2-Pentanone 3-Pentanone 3-Hexanone
Furans	10	Furan	Esters	2	Acetic acid, methyl ester Propanoic acid, methyl ester
		2-Methylfuran	Sulfur Compounds	2	Dimethyl sulfide Dimethyl disulfide
		2,5-Dimethylfuran			
		2-(Methoxymethyl)-furan	Thiophenes	1	Thiophene
		2-Methyltetrahydrofuran-3-one			
		Furfural	Others	4	1,3-Pentadiene Methylethyl ether Hexane 3,4-Dyhydropyran
		2-Acetylfuran			
		5-Methylfurfural			
		Furfuryl alcohol			
		Furfuryl acetate			
Total			35		

Table 12. Major flavor compounds identified in Dutch coffee

	Volatile compound	RT	Area( $\times 10^{-3}$ )					
			L1 <sup>1</sup>	L2	L3	R1	R2	R3
1	Acetaldehyde	7.81	1635 $\pm$ 4 <sup>ab</sup>	1641 $\pm$ 63 <sup>ab</sup>	1733 $\pm$ 79 <sup>a</sup>	1358 $\pm$ 19 <sup>c</sup>	1508 $\pm$ 75 <sup>bc</sup>	1505 $\pm$ 6 <sup>bc</sup>
2	Methylethyl ether	8.38	902 $\pm$ 36 <sup>b</sup>	990 $\pm$ 27 <sup>b</sup>	1150 $\pm$ 17 <sup>a</sup>	757 $\pm$ 7 <sup>c</sup>	898 $\pm$ 11 <sup>b</sup>	925 $\pm$ 0 <sup>b</sup>
3	1,3-Pentadiene	9.71	80 $\pm$ 17 <sup>b</sup>	71 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	112 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	30 $\pm$ 2 <sup>d</sup>	46 $\pm$ 8 <sup>cd</sup>	65 $\pm$ 18 <sup>bc</sup>
4	Furan	9.99	2464 $\pm$ 794 <sup>bc</sup>	3078 $\pm$ 211 <sup>b</sup>	3833 $\pm$ 168 <sup>a</sup>	1799 $\pm$ 83 <sup>c</sup>	2487 $\pm$ 315 <sup>bc</sup>	2980 $\pm$ 372 <sup>b</sup>
5	2-Propanone	10.37	2092 $\pm$ 17 <sup>b</sup>	2074 $\pm$ 80 <sup>b</sup>	2333 $\pm$ 65 <sup>a</sup>	1771 $\pm$ 37 <sup>d</sup>	1938 $\pm$ 25 <sup>c</sup>	1944 $\pm$ 18 <sup>c</sup>
6	Dimethyl sulfide	10.88	18 $\pm$ 6	28 $\pm$ 16	35 $\pm$ 7	17 $\pm$ 2	34 $\pm$ 6	39 $\pm$ 19
7	Acetic acid methyl ester	11.31	6095 $\pm$ 453 <sup>b</sup>	6285 $\pm$ 677 <sup>b</sup>	7231 $\pm$ 467 <sup>a</sup>	5198 $\pm$ 338 <sup>c</sup>	5919 $\pm$ 253 <sup>bc</sup>	5986 $\pm$ 394 <sup>bc</sup>
8	Hexane	11.96	163 $\pm$ 84	504 $\pm$ 388	304 $\pm$ 420	15 $\pm$ 0	37 $\pm$ 15	18 $\pm$ 0
9	2-Methylpropanal	12.51	2750 $\pm$ 82 <sup>b</sup>	2714 $\pm$ 73 <sup>bc</sup>	3080 $\pm$ 106 <sup>a</sup>	2251 $\pm$ 97 <sup>d</sup>	2572 $\pm$ 95 <sup>c</sup>	2669 $\pm$ 71 <sup>bc</sup>
10	2-Methylfuran	13.97	4515 $\pm$ 1810 <sup>bc</sup>	5415 $\pm$ 368 <sup>ab</sup>	6689 $\pm$ 317 <sup>a</sup>	3013 $\pm$ 230 <sup>c</sup>	3573 $\pm$ 1217 <sup>bc</sup>	4479 $\pm$ 866 <sup>bc</sup>
11	Butanal	14.17	84 $\pm$ 3 <sup>b</sup>	82 $\pm$ 3 <sup>b</sup>	92 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	71 $\pm$ 1 <sup>c</sup>	79 $\pm$ 7 <sup>b</sup>	79 $\pm$ 4 <sup>b</sup>
12	2-Butanone	14.46	2094 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	2080 $\pm$ 68 <sup>b</sup>	2329 $\pm$ 13 <sup>a</sup>	1774 $\pm$ 44 <sup>d</sup>	1962 $\pm$ 40 <sup>c</sup>	1964 $\pm$ 17 <sup>c</sup>
13	Propanoic acid methyl ester	15.65	190 $\pm$ 5 <sup>c</sup>	198 $\pm$ 3 <sup>b</sup>	222 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	163 $\pm$ 5 <sup>d</sup>	183 $\pm$ 2 <sup>c</sup>	188 $\pm$ 5 <sup>c</sup>
14	3-Methylbutanal	16.99	2863 $\pm$ 116 <sup>bc</sup>	3086 $\pm$ 280 <sup>ab</sup>	3260 $\pm$ 62 <sup>a</sup>	2371 $\pm$ 110 <sup>d</sup>	2630 $\pm$ 109 <sup>cd</sup>	2747 $\pm$ 161 <sup>c</sup>
15	2-Methylbutanal	17.45	10230 $\pm$ 484 <sup>bc</sup>	10740 $\pm$ 193 <sup>b</sup>	11892 $\pm$ 198 <sup>a</sup>	8527 $\pm$ 212 <sup>e</sup>	9512 $\pm$ 409 <sup>d</sup>	9917 $\pm$ 581 <sup>cd</sup>
16	Thiophene	18.42	127 $\pm$ 38 <sup>bc</sup>	149 $\pm$ 4 <sup>ab</sup>	169 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	98 $\pm$ 3 <sup>c</sup>	120 $\pm$ 15 <sup>bc</sup>	131 $\pm$ 12 <sup>b</sup>
17	2-Pentanone	18.85	347 $\pm$ 3 <sup>b</sup>	348 $\pm$ 13 <sup>b</sup>	384 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	307 $\pm$ 17 <sup>c</sup>	337 $\pm$ 1 <sup>b</sup>	342 $\pm$ 13 <sup>b</sup>
18	3,4-Dihydropyran	18.96	90 $\pm$ 15 <sup>abc</sup>	100 $\pm$ 9 <sup>ab</sup>	110 $\pm$ 12 <sup>a</sup>	73 $\pm$ 7 <sup>c</sup>	88 $\pm$ 3b <sup>c</sup>	90 $\pm$ 14 <sup>abc</sup>
19	2,5-Dimethyl furan	19.13	209 $\pm$ 90 <sup>bc</sup>	254 $\pm$ 6 <sup>ab</sup>	292 $\pm$ 16 <sup>a</sup>	151 $\pm$ 17 <sup>c</sup>	191 $\pm$ 29 <sup>bc</sup>	223 $\pm$ 25 <sup>abc</sup>
20	2,3-Pentanedione	19.22	201 $\pm$ 18 <sup>ab</sup>	198 $\pm$ 4 <sup>ab</sup>	216 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	175 $\pm$ 27 <sup>b</sup>	186 $\pm$ 18 <sup>ab</sup>	192 $\pm$ 13 <sup>ab</sup>

21	3-Pentanone	19.34	68 ± 1 <sup>b</sup>	68 ± 2 <sup>b</sup>	76 ± 3 <sup>a</sup>	56 ± 3 <sup>d</sup>	62 ± 1 <sup>c</sup>	61 ± 1 <sup>c</sup>
22	3-Methylpyrazine	20.61	94 ± 41 <sup>bc</sup>	117 ± 9 <sup>ab</sup>	136 ± 12 <sup>a</sup>	80 ± 5 <sup>c</sup>	98 ± 11 <sup>bc</sup>	109 ± 12 <sup>abc</sup>
23	1-Methyl-pyrrole	22.80	508 ± 71	568 ± 38	605 ± 41	513 ± 62	542 ± 63	591 ± 103
24	Dimethyl disulfide	22.84	170 ± 42	168 ± 10	154 ± 9	180 ± 19	180 ± 31	164 ± 22
25	1H-Pyrrole	23.77	60 ± 15	64 ± 8	65 ± 9	65 ± 11	70 ± 17	71 ± 16
26	3-Hexanone	23.83	116 ± 6 <sup>bc</sup>	117 ± 2 <sup>ab</sup>	130 ± 7 <sup>a</sup>	102 ± 8 <sup>c</sup>	110 ± 10 <sup>bc</sup>	117 ± 10 <sup>abc</sup>
27	Hexanal	24.75	34 ± 3 <sup>ab</sup>	34 ± 1 <sup>ab</sup>	34 ± 1 <sup>a</sup>	26 ± 3 <sup>c</sup>	29 ± 2 <sup>bc</sup>	28 ± 4 <sup>c</sup>
28	2-(Methoxymethyl)-furan	26.94	195 ± 2 <sup>ab</sup>	192 ± 10 <sup>ab</sup>	205 ± 5 <sup>a</sup>	169 ± 6 <sup>b</sup>	176 ± 8 <sup>b</sup>	180 ± 13 <sup>b</sup>
29	2-Methyltetrahydro-furan-3-one	26.99	61 ± 3 <sup>ab</sup>	60 ± 3 <sup>ab</sup>	64 ± 0 <sup>a</sup>	57 ± 4 <sup>b</sup>	58 ± 1 <sup>b</sup>	58 ± 1 <sup>b</sup>
30	Furfural	28.95	201 ± 4	199 ± 17	199 ± 4	187 ± 26	187 ± 0	196 ± 11
31	Furfuryl alcohol	29.07	45 ± 12	41 ± 10	33 ± 18	47 ± 10	32 ± 1	37 ± 8
32	2,6-Dimethyl-pyrazine	32.07	52 ± 3	48 ± 3	50 ± 2	47 ± 4	49 ± 3	48 ± 3
33	2-Acetylfuran	32.85	81 ± 3	78 ± 3	82 ± 12	82 ± 15	80 ± 5	79 ± 13
34	5-Methylfurfural	35.69	105 ± 7	108 ± 4	109 ± 2	109 ± 20	106 ± 4	105 ± 7
35	Furfuryl acetate	36.05	430 ± 24	415 ± 9	423 ± 26	396 ± 46	408 ± 22	403 ± 36

All results are expressed as mean±SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences(p<0.05) in the same row and other values not marked any letter are not different significantly.

<sup>1</sup>L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate(mL/min)

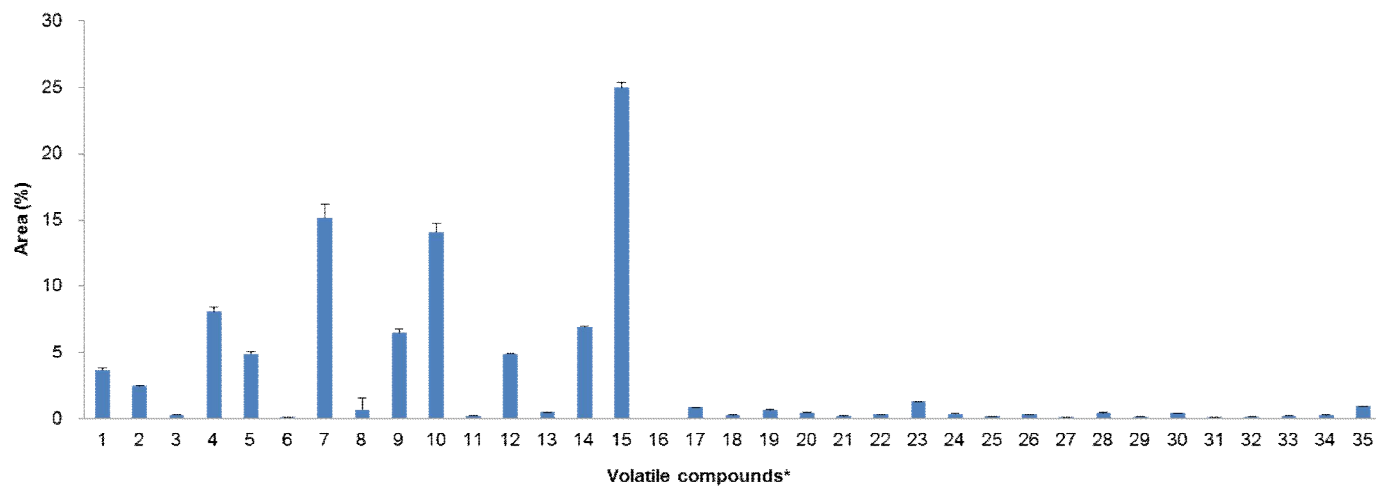


Figure 7. Proportion of detected volatile compounds in Dutch coffee

\*The criterion of above bar graph is L3 and the numbers indicate each volatile compound marked at Table 12.

Table 13. Relative ratio of volatiles compounds area of Dutch coffee in spectrum of HS-GC-MS

	L1	L2	L3	R1	R2	R3	D
Relative Ratio	0.82	0.89	1	0.67	0.76	0.81	0.37

\*L: low temp.(4°C) extraction, R: room temp.(20°C) extraction, number: flow rate(mL/min)



## 1.5 관능평가

### 1.5.1 추출 온도 및 추출 속도 변화에 따른 향미의 강도 변화

추출 조건에 따른 향미의 강도는 관능훈련 과정에서 선정한 24가지 용어(Appendix B)에 대해 9점 척도로 강도를 평가하였다. 그 결과를 관능적 특성의 항목별로 Table 14에 나타내었고, 기준기료로 제시한 드립 커피와 비교하여 더치커피의 특성을 분석하였다. 시료들 간에 차이를 보인 항목은 쓴 향(bitter flavor), 와인 향(winery flavor), 느끼한 맛(greasy taste), 쓴 맛(bitter taste), 탄 맛(burnt taste), 기름짐(oily), 텁텁함(unpleasant-tasting), 뒷맛의 지속성(duration of aftertaste)으로 총 8가지 항목이며, 더치커피 시료는 드립커피에 비해 상기의 모든 항목에서 낮은 값을 보였다( $p < 0.05$ ). 이와 같은 결과는 드립커피는 추출 온도가 높기 때문에 더치커피보다 더 많은 지질이 추출되어(Ratnayake et al. 1993) 느끼한 맛과 기름짐 정도가 높게 나타난 것으로 보인다.

한편 쓴 맛과 쓴 향, 느끼한 맛과 느끼함은 서로 상관관계가 높기( $R^2 > 0.65$ ) 때문에 비슷한 경향을 보였고, 쓴 향에 비해 쓴 맛은 추출 온도 간의 차이가 더 두드러졌다. 그밖에 더치커피는 드립커피에 비해 고소한 향(nutty flavor)과 신향(acidic flavor)이 높았으나 유의적이지 않았고, 고소한 맛과 신 맛은 비슷하거나 더 낮았다. 이와 같은 차이는 커피를 추출하는 온도에 의한 영향이 크며 추출 온도가 높을수록 강한 맛을 내는 성분들이 더 많이 추출되는 것으로 보인다. Andueza et al.(2003)는 온도를 달리하여 추출한 에스프레소를 관능평가를 하였는데, 그 결과 추출 온도가 높아질수록 향의 강도, 바디감, 산도, 쓴 맛, 떼임, 향의 강도가 증가하여 본 연구결과와 유사한 경향을 살펴볼 수 있었다.

관능적 특성 항목별로 유의성 검정을 실시한 결과 같은 향과 맛을 나타내는 항목은 모두 상관관계가 높았고( $p < 0.05$ ), 그 중 다섯 가지 항목(담뱃재 냄새, 탄 냄새, 탄 맛, 쓴 맛, 다크 초콜릿 맛)은 서로 간의 상호 연관성이 높게 나타나 커피의 전반적인 쓴 맛과 강도에 주요한 영향을 끼치는 특성임을 알 수 있었다.

Table 14. Sensory evaluation of Dutch coffee and drip coffee

	L1 <sup>1</sup>	L2	L3	R1	R2	R3	D
Nutty flavor	5.92±1.14	5.96±0.96	5.83±0.78	5.94±0.89	5.96±0.99	5.63±1.15	5.58±1.41
Woody odor	3.60±1.03	3.56±1.07	3.33±1.03	3.79±1.29	3.54±1.42	3.96±0.94	3.83±1.76
Dark chocolate flavor	4.77±0.99	4.31±0.89	4.75±1.36	4.73±1.37	4.83±1.13	5.08±1.38	5.08±1.31
Tobacco ash odor	4.54±1.21	4.31±1.10	4.29±1.14	4.31±1.31	4.67±1.19	5.10±1.44	5.29±1.83
Acidic flavor	5.13±1.35	4.92±1.82	4.75±1.54	4.08±1.12	4.50±1.65	4.85±1.55	4.58±1.20
Bitter flavor	5.52±0.76 <sup>ab</sup>	4.75±0.72 <sup>b</sup>	5.25±1.16 <sup>ab</sup>	5.71±1.27 <sup>ab</sup>	5.67±1.13 <sup>ab</sup>	5.83±1.19 <sup>a</sup>	5.88±1.13 <sup>a</sup>
Winery flavor	1.46±0.89 <sup>ab</sup>	1.58±0.63 <sup>ab</sup>	1.50±0.64 <sup>ab</sup>	1.54±0.50 <sup>ab</sup>	1.29±0.50 <sup>b</sup>	1.50±0.56 <sup>ab</sup>	2.04±0.92 <sup>a</sup>
Burnt odor	5.92±1.35	5.71±1.16	5.88±1.07	6.06±1.37	5.88±0.96	6.54±1.47	6.71±1.36
Nutty taste	5.59±1.11	6.08±0.95	5.83±1.27	5.83±1.01	5.75±1.06	5.54±1.10	5.63±1.19
Woody taste	3.86±1.25	3.96±0.92	4.00±1.02	4.13±1.48	4.17±0.98	4.40±1.48	3.75±1.53
Greasy taste	1.73±0.75 <sup>b</sup>	1.83±0.78 <sup>b</sup>	1.79±0.89 <sup>b</sup>	2.08±0.82 <sup>b</sup>	1.71±0.75 <sup>b</sup>	2.00±1.22 <sup>b</sup>	3.25±1.37 <sup>a</sup>
Dark chocolate taste	5.02±0.99	5.06±1.01	5.00±1.26	5.35±1.24	5.33±1.21	5.19±1.43	5.63±1.58
Sweet taste	1.32±0.51	1.33±0.49	1.38±0.43	1.33±0.44	1.25±0.50	1.33±0.39	1.67±0.54
Astringent taste	5.75±0.90	5.35±1.11	5.75±0.75	5.75±0.97	5.42±1.00	5.50±1.60	6.08±1.10
Sour taste	5.32±1.31	5.17±1.39	5.25±1.37	4.81±1.02	4.75±1.14	4.92±1.28	5.33±1.29
Bitter taste	6.43±0.55 <sup>ab</sup>	5.68±0.46 <sup>c</sup>	6.00±0.67 <sup>bc</sup>	6.23±0.90 <sup>b</sup>	6.25±0.87 <sup>b</sup>	6.67±0.86 <sup>ab</sup>	7.08±0.63 <sup>a</sup>
Salty taste	2.08±1.02	1.75±0.62	1.88±1.03	1.88±0.64	1.67±0.91	1.75±0.62	2.17±0.75
Burnt taste	5.63±1.37 <sup>b</sup>	5.58±0.79 <sup>b</sup>	5.63±1.40 <sup>b</sup>	5.77±1.29 <sup>ab</sup>	5.79±0.94 <sup>ab</sup>	6.40±1.22 <sup>ab</sup>	6.75±1.03 <sup>a</sup>
Rich taste	5.06±1.45	4.63±1.26	4.71±1.20	4.79±1.08	4.79±1.01	4.71±1.16	4.63±1.05
Oily	1.96±0.75 <sup>b</sup>	2.08±0.97 <sup>b</sup>	1.92±0.79 <sup>b</sup>	2.17±1.30 <sup>b</sup>	1.88±0.88 <sup>b</sup>	2.17±1.29 <sup>b</sup>	3.25±1.32 <sup>a</sup>
Body	4.19±0.82	4.08±1.16	3.92±1.16	4.25±0.97	4.04±1.29	4.21±1.03	4.79±1.42
Soft swallowing	5.48±0.98	5.54±1.08	5.63±0.96	5.38±0.90	5.58±0.82	5.06±1.06	5.21±1.48
Unpleasant-tasting	5.04±1.44 <sup>b</sup>	4.92±1.38 <sup>b</sup>	5.19±1.26 <sup>ab</sup>	5.35±1.21 <sup>ab</sup>	5.25±1.23 <sup>ab</sup>	5.56±1.43 <sup>ab</sup>	6.33±1.05 <sup>a</sup>
Duration of after taste	6.44±0.91 <sup>b</sup>	6.17±1.01 <sup>b</sup>	6.50±1.00 <sup>b</sup>	6.48±1.33 <sup>b</sup>	6.25±0.97 <sup>b</sup>	6.54±1.36 <sup>b</sup>	7.63±1.05 <sup>a</sup>

All results are expressed as mean±SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan' s post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences (p<0.05) in the same row and other values not marked any letter are not different significantly.

<sup>1</sup>L: low temp.(4℃) extraction, R: room temp.(20℃) extraction, number: flow rate(mL/min), D: drip coffee

## 2. 추출 및 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성 및 항산화 활성의 변화

### 2.1 이화학적 특성 측정

#### 2.1.1 pH 및 총산도

추출한 직후의 더치커피의 pH는 4℃와 20℃에서 각각  $5.61 \pm 0.05$ 와  $5.65 \pm 0.02$ 이었고 저장 기간이 길어질수록 감소하였다(Figure 8). 저장 온도가 높을수록 pH의 감소의 폭이 더 크고, 추출 온도 보다 저장 온도의 영향이 커서 같은 저장 온도의 시료끼리 비슷한 감소 양상을 보였다. Rosa et al.(1990)는 percolator로 추출한 커피를 4, 20, 30, 40℃에서 60일간 저장하며 변화를 관찰하였는데, 저장 온도가 증가할수록 pH가 크게 감소하였고, 특히 저장 초기에 온도의 영향이 가장 컸다.

Pérez-Martínez, et al.(2008)이 프렌치 프레소를 이용해 추출한 커피를 60일간 4℃와 25℃에서 저장한 결과 pH가 감소하였고 25℃에서 저장한 커피가 더 낮은 pH를 보여 본 실험 결과의 경향과 같았다. 저장에 따른 pH의 변화는 CGA가 산화에 의해 CA와 QA로 분해되면서 감소하고 저장 온도가 높을수록 분해가 촉진되기 때문에 감소의 폭이 증가한다(Sivetz and Desrosier 1963).

한편 초기의 총산도는 20℃에서 추출한 더치커피가 높았으며 저장 기간이 길어질수록 증가하였고(Figure 9), 증가율은 20℃에서 저장한 커피에서 더 높았다. 이에 초기 산도가 더 낮았던 LR시료는 저장 기간이 증가함에 따라 초기 산도가 더 높았던 RL시료보다 산도가 높아졌다. 즉, pH뿐만 아니라 산도의 변화 또한 초기의 산도보다는 저장 온도의 영향이 컸다.

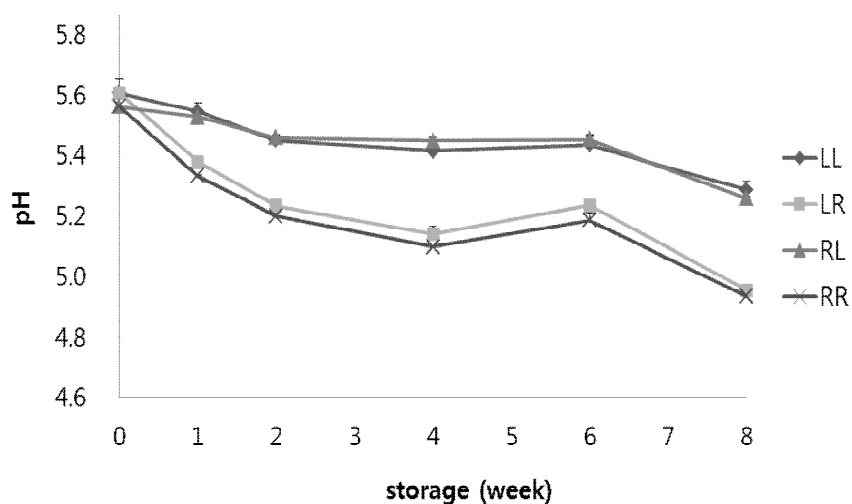


Figure 8. Changes in pH of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

\*LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

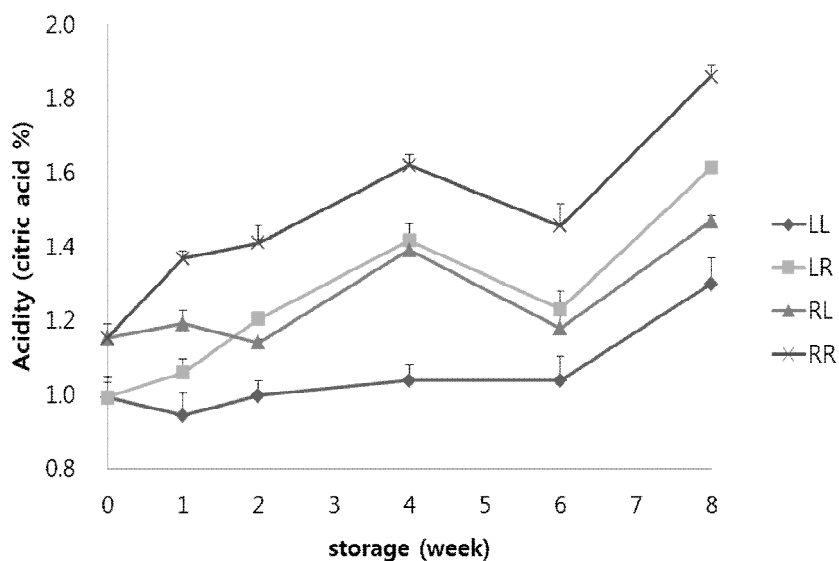


Figure 9. Changes in titratable acidity(citric acid %) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

\*LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

### 2.1.2 갈색도 및 고형분 함량

갈색도는 4℃와 20℃의 추출 온도에서 각각  $0.250 \pm 0.01$ ,  $0.313 \pm 0.011$ 으로 나타났다. 공통적으로 2주차와 8주차에 가장 높았으며 최종적으로 갈색도는 증가하였고( $p < 0.05$ ), 추출 및 저장 온도에 상관없이 비슷한 변화 양상을 보였다(Figure 10). 이와 유사하게 Rosa et al.(1990)이 저장에 따른 커피의 반사율을 측정한 결과 저장 온도가 높을수록 색이 더 어두워졌다. 추출 직후 커피의 상대적인 반사율을 100 (100=lighter; 0=darker)이라고 할 때 percolator로 추출한 커피는 4℃에서 저장 시 약간 열어지는데 반해 20℃와 40℃에서는 반사율이 12일 만에 각각 약 40%, 60% 씩 감소하여 저장 온도가 높을수록 색이 더 진해졌다.

고형분 함량은 저장 기간에 따른 차이를 보이지 않았다(Figure 11). 고형분 함량이 높은 커피일수록 산도, 갈색도, caffeine 함량, 점도가 높았으나 더치커피는 저장 기간에 따라 고형분 함량 차이가 유의적이지 않았으므로 고형분 함량 차이에 따른 효과는 배제한 결과가 도출되었다.

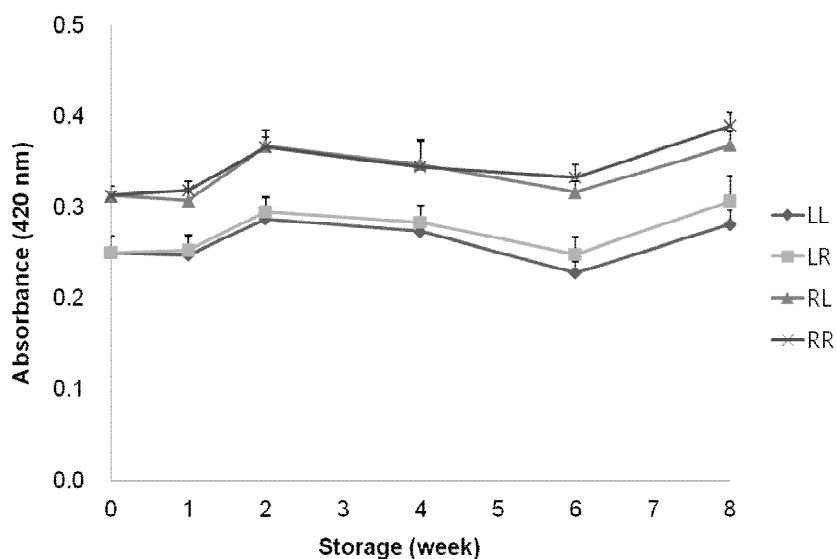


Figure 10. Changes in brown color(420 nm) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

\*LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

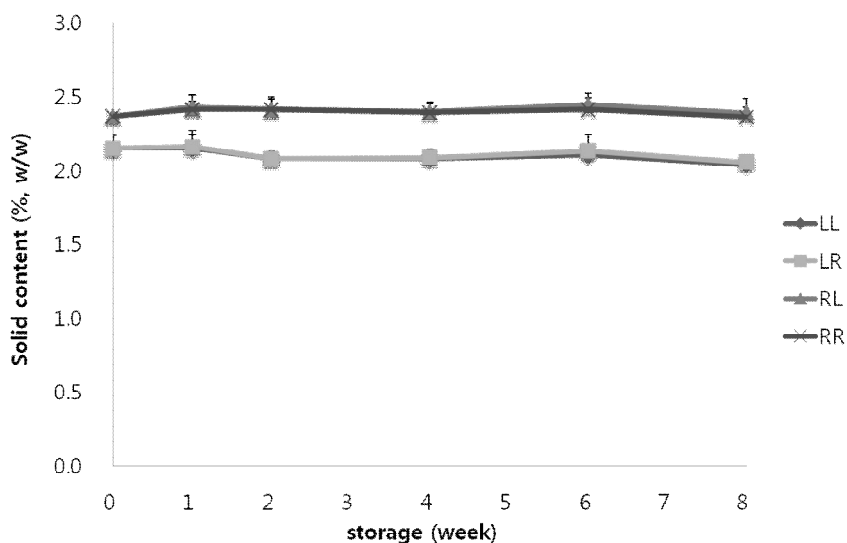


Figure 11. Changes in solid content(% w/w) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

\*LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

### 2.1.3 총 페놀 함량

저장 기간 동안 4℃와 20℃에서 추출한 커피의 총 페놀 함량은 각각 15.12–17.35, 17.52–20.63 µg GAE/mL로 나타났다(Table 15). 그 함량은 Kreicbergs et al.(2011)이 다양한 종류의 원두로 커피의 페놀 함량을 측정한 결과 2.2–2.6 g GA/100 g으로 본 실험값의 단위를 환산한 2.07– 2.57 g GA/100 g값과 유사하였다. 저장 기간에 길어짐에 따라서 총 페놀의 함량은 감소하는 경향을 보였으며, 이와 같은 페놀함량의 감소는 커피원두(Del Castillo et al. 2002)와 토마토(Vallverdú- Queralt et al. 2011)등에서도 나타난다고 보고된 바 있었다.

Table 15. Change in total phenolic content ( $\mu\text{g GAE}^1/\text{mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

Storage (week)	Extraction and storage condition			
	LL <sup>2</sup>	LR	RL	RR
0	$17.35 \pm 0.36^a$	$17.35 \pm 0.36^a$	$18.97 \pm 0.33^b$	$18.97 \pm 0.33^a$
1	$16.72 \pm 0.89^{ab}$	$16.44 \pm 0.53^{ab}$	$18.40 \pm 0.62^b$	$17.52 \pm 0.58^b$
2	$16.90 \pm 0.71^{ab}$	$16.45 \pm 0.70^{ab}$	$20.63 \pm 0.41^a$	$18.95 \pm 0.58^a$
4	$16.28 \pm 0.70^{ab}$	$15.66 \pm 1.06^b$	$19.08 \pm 0.10^b$	$18.35 \pm 0.35^{ab}$
6	$16.70 \pm 0.66^{ab}$	$15.68 \pm 0.71^b$	$19.20 \pm 0.50^b$	$18.28 \pm 0.32^{ab}$
8	$15.76 \pm 0.50^b$	$15.12 \pm 0.37^b$	$18.56 \pm 0.74^b$	$18.02 \pm 0.41^{ab}$

All results are expressed as mean  $\pm$  SD (standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) in the same column.

<sup>1</sup>GAE: gallic acid equivalent

<sup>2</sup>LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C



## 2.2 항산화 활성

### 2.2.1 ABTS 자유 라디칼 소거 활성능

ABTS 자유 라디칼 소거 활성능은 Figure 12에 제시된 것과 같이 4℃와 20℃에서 추출한 시료가 각각  $33.6 \pm 2.5$ ,  $39.6 \pm 0.4$   $\mu\text{mol TE/mL}$ 로 20℃에서 추출한 시료가 더 높았다( $p < 0.05$ ). 저장하는 동안 추출 온도 간의 차이는 좁혀지지 않았고 각각의 저장 조건별로 항산화 활성은 변동이 있었으나 뚜렷한 경향을 보이지 않았다.

### 2.2.2 DPPH 자유 라디칼 소거 활성능

DPPH 자유 라디칼 소거 활성능은 4℃와 20℃에서 추출한 시료가 각각  $14.7 \pm 0.9$ ,  $18.5 \pm 0.2$   $\mu\text{mol TE/mL}$ 로 추출 온도가 높을수록 더 높았고(Figure 13), 그 값은 Ludwig et al.(2012)의 결과와 유사하였다. 페놀 함량 변화와는 상반되게 2주차에 모든 시료의 DPPH 항산화 활성이 가장 낮았고 저장기간이 길어질수록 증가하였다( $p < 0.05$ ). 그러나 식물에서 유래된 페놀은 항산화 활성에 중요한 역할을 담당하며, 주로 페놀함량이 높을수록 항산화 활성이 높다고 알려져 있다(Kreicbergs et al. 2011). 이와 같은 상반된 변화는 페놀 화합물을 구성성분의 변화 또는 다른 항산화 활성을 나타내는 물질들의 함량 변화에 의한 것으로 사료된다.

한편 DPPH 라디칼을 사용한 것에 비해 ABTS 라디칼을 사용하였을 때 표준물질 대비 항산화 활성이 두 배 이상 높았다. 두 방법은 각각의 라디칼이  $\text{H}^+$  donor과 반응하여 색이 감소하는 정도로 항산화 활성을 측정한다(Leon-Carmona and Galano 2011). 이때 ABTS가 더 높은 농도 범위에서 표준 곡선이 도출된 것으로 미루어보아 같은 항산화 물질에 반응하는 정도에서 기인한 차이라고 유추할 수 있다.

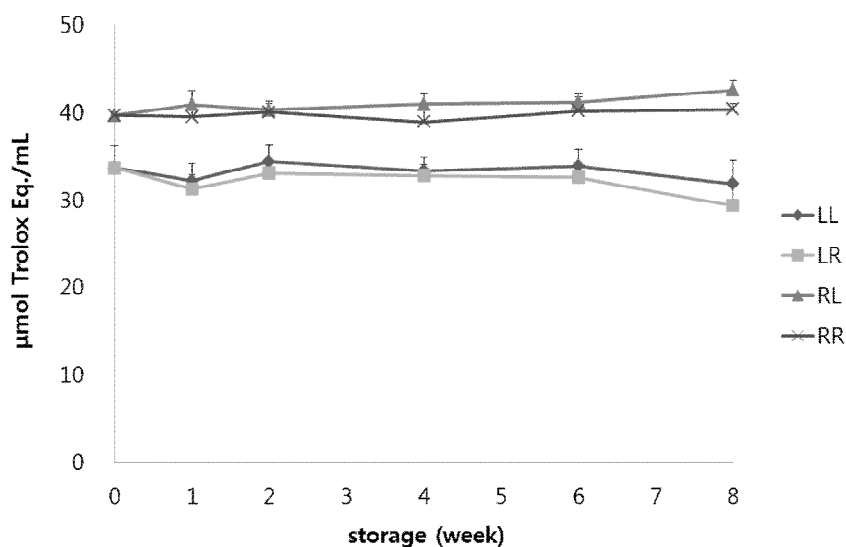


Figure 12. ABTS free radical scavenging activity of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

\*LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

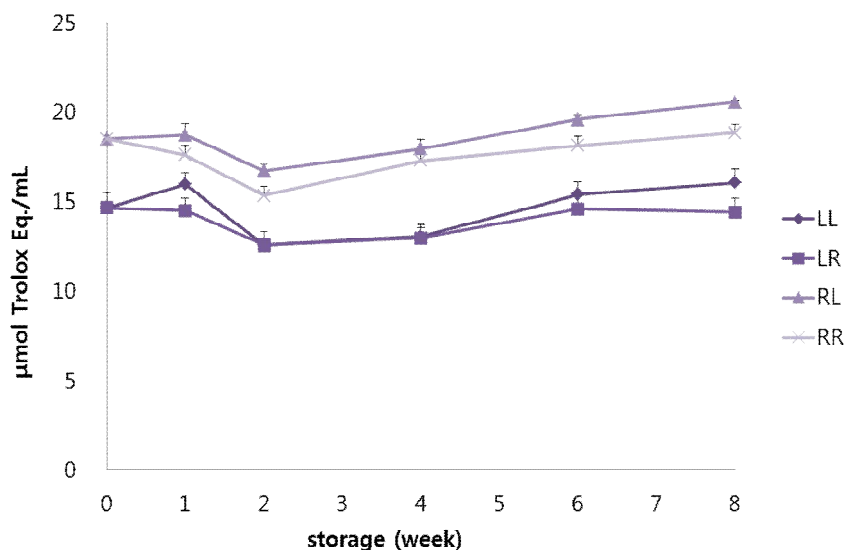


Figure 13. DPPH free radical scavenging activity of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

\*LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

## 2.3 주요 기능성 성분

### 2.3.1 주요 유기산 및 caffeine 함량

추출 온도가 높은 시료의 CGA 함량이 더 높았고( $p < 0.05$ ), 20℃에서 저장한 시료만 저장 기간에 따라 약간 증가하였다(Table 16). 뜨거운 물로 추출한 커피를 80℃에서 보관하면 CGA lactone이 가수분해 되어 처음보다 약 60% 정도 감소하면서 CGA의 양이 증가한다. 이는 커피의 쓴맛과 신맛의 증가에 영향을 미치고, 그 영향력은 CGA가 QA와 CA로 분해되는 것보다 크다(Clark and Vitzthum 2001). 그러나 본 연구에서는 그보다 낮은 온도로 저장하였기 때문에 CGA lactone의 분해가 활발히 이루어지지 않아 그 함량이 차이가 크지 않았던 것으로 보인다.

CA의 함량은 4℃에서 추출한 시료는 약간의 함량 변화가 있었고, 20℃에서 추출한 시료는 6주차에 그 함량이 급격하게 증가하였다(Table 17). CGA에 비해 CA의 함량이 적기 때문에 그 영향력이 크게 나타났으며, 이와 같은 증가의 원인은 CGA의 가수분해에 의한 QA의 함량 변화와 연관 지어 생각해볼 수 있다. QA는 저장 중 함량이 CGA와 유사하게 증가하였으나 모든 조건에서 유의적이지는 않았다(Table 18). QA의 증가량은 CA와 비슷하고 두 분자의 분자량이 비슷하므로 CGA의 가수분해에 의한 증가로 보인다.

Caffeine 함량은 4℃에서 추출한 시료가 더 낮았으며, 저장 기간 동안 그 함량은 1주차에 약 10% 감소하였고 이후 저장 기간 동안 큰 변화를 보이지 않았다(Table 19). 이는 Pérez-Martínez et al.(2008)의 연구 결과에서도 마찬가지로 french press라는 다른 기구를 이용해 커피를 추출하였지만, 추출한 커피를 4℃와 25℃에 60일간 저장한 결과 caffeine 함량의 변화가 없었다.

Table 16. Chlorogenic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

Storage (week)	Extraction and storage condition			
	LL <sup>1</sup>	LR	RL	RR
0	373.6 $\pm$ 7.7	373.6 $\pm$ 7.7 <sup>b</sup>	436.7 $\pm$ 18.8	436.7 $\pm$ 18.8 <sup>bc</sup>
1	408.7 $\pm$ 18.7	386.6 $\pm$ 8.7 <sup>ab</sup>	416.3 $\pm$ 4.3	419.7 $\pm$ 12.1 <sup>c</sup>
2	371.4 $\pm$ 15.4	398.6 $\pm$ 32.7 <sup>ab</sup>	441.0 $\pm$ 29.1	450.1 $\pm$ 16.3 <sup>abc</sup>
4	394.2 $\pm$ 32.9	398.9 $\pm$ 35.8 <sup>ab</sup>	429.5 $\pm$ 26.3	489.2 $\pm$ 10.7 <sup>a</sup>
6	383.2 $\pm$ 12.3	397.8 $\pm$ 18.9 <sup>ab</sup>	428.7 $\pm$ 15.3	485.2 $\pm$ 15.9 <sup>a</sup>
8	393.5 $\pm$ 19.3	428.2 $\pm$ 12.0 <sup>a</sup>	419.5 $\pm$ 15.0	472.5 $\pm$ 25.7 <sup>ab</sup>

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p<0.05$ ) in the same column and other values not marked any letter are not different significantly.

<sup>1</sup>LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

Table 17. Caffeic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

Storage (week)	Extraction and storage condition			
	LL <sup>1</sup>	LR	RL	RR
0	11.53 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	11.53 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	11.04 $\pm$ 1.58 <sup>b</sup>	11.04 $\pm$ 1.58 <sup>b</sup>
1	12.39 $\pm$ 2.36 <sup>ab</sup>	10.09 $\pm$ 2.16 <sup>ab</sup>	10.80 $\pm$ 1.74 <sup>b</sup>	10.68 $\pm$ 1.28 <sup>b</sup>
2	11.03 $\pm$ 2.03 <sup>ab</sup>	9.77 $\pm$ 3.18 <sup>b</sup>	13.36 $\pm$ 2.68 <sup>b</sup>	11.79 $\pm$ 2.23 <sup>b</sup>
4	10.10 $\pm$ 2.91 <sup>b</sup>	10.40 $\pm$ 2.31 <sup>ab</sup>	12.44 $\pm$ 2.88 <sup>b</sup>	13.02 $\pm$ 2.78 <sup>b</sup>
6	15.13 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	12.05 $\pm$ 1.58 <sup>ab</sup>	21.08 $\pm$ 2.97 <sup>a</sup>	20.52 $\pm$ 2.04 <sup>a</sup>
8	12.93 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup>	14.64 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>	20.68 $\pm$ 4.49 <sup>a</sup>	20.16 $\pm$ 5.79 <sup>a</sup>

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p<0.05$ ) in the same column and other values not marked any letter are not different significantly.

<sup>1</sup>LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

Table 18. Quinic acid content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

Storage (week)	Extraction and storage condition			
	LL <sup>1</sup>	LR	RL	RR
0	279.0 $\pm$ 13.5	279.0 $\pm$ 13.5 <sup>b</sup>	304.6 $\pm$ 13.5	304.6 $\pm$ 13.5 <sup>ab</sup>
1	296.6 $\pm$ 17.0	283.9 $\pm$ 15.9 <sup>ab</sup>	298.9 $\pm$ 8.3	288.2 $\pm$ 8.9 <sup>c</sup>
2	280.1 $\pm$ 14.9	287.0 $\pm$ 22.6 <sup>ab</sup>	307.4 $\pm$ 19.5	308.2 $\pm$ 18.2 <sup>abc</sup>
4	288.7 $\pm$ 26.1	291.1 $\pm$ 25.3 <sup>ab</sup>	300.3 $\pm$ 21.8	328.3 $\pm$ 17.0 <sup>a</sup>
6	280.0 $\pm$ 11.8	291.1 $\pm$ 20.7 <sup>ab</sup>	296.9 $\pm$ 19.2	320.3 $\pm$ 7.9 <sup>ab</sup>
8	285.9 $\pm$ 15.0	316.0 $\pm$ 17.9 <sup>a</sup>	296.7 $\pm$ 18.9	316.2 $\pm$ 20.9 <sup>ab</sup>

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p<0.05$ ) in the same column and other values not marked any letter are not different significantly.

<sup>1</sup>LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

Table 19. Caffeine content( $\mu\text{g/mL}$ ) of Dutch coffee under different extraction and storage conditions

Storage (week)	Extraction and storage condition			
	LL <sup>1</sup>	LR	RL	RR
0	1316.9 $\pm$ 33.3 <sup>a</sup>	1316.9 $\pm$ 33.3	1485.6 $\pm$ 22.0 <sup>a</sup>	1485.6 $\pm$ 22.0 <sup>a</sup>
1	1167.3 $\pm$ 68.9 <sup>b</sup>	1247.8 $\pm$ 63.3	1340.1 $\pm$ 70.9 <sup>b</sup>	1359.9 $\pm$ 38.8 <sup>b</sup>
2	1183.6 $\pm$ 11.7 <sup>b</sup>	1222.1 $\pm$ 58.2	1352.4 $\pm$ 37.9 <sup>b</sup>	1398.4 $\pm$ 57.0 <sup>ab</sup>
4	1210.9 $\pm$ 69.1 <sup>b</sup>	1221.9 $\pm$ 82.7	1329.8 $\pm$ 19.5 <sup>b</sup>	1382.5 $\pm$ 80.7 <sup>ab</sup>
6	1205.6 $\pm$ 15.9 <sup>b</sup>	1192.2 $\pm$ 72.9	1334.9 $\pm$ 45.6 <sup>b</sup>	1377.8 $\pm$ 36.1 <sup>ab</sup>
8	1218.8 $\pm$ 80.8 <sup>b</sup>	1292.8 $\pm$ 74.0	1324.3 $\pm$ 9.8 <sup>b</sup>	1313.2 $\pm$ 61.1 <sup>b</sup>

All results are expressed as mean $\pm$ SD(standard deviation) for three replicates. Data were analysed by 1-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test for multiple comparison. Different letters indicate significant differences( $p<0.05$ ) in the same column and other values not marked any letter are not different significantly.

<sup>1</sup>LL: both extraction and storage at 4°C, LR: extraction at 4°C and storage at 20°C, RL: extraction at 20°C and storage at 4°C, RR: both extraction and storage at 20°C

## 2.4 일반세균수 및 대장균수

모든 추출 조건의 시료는 8주간 저장하는 동안 일반세균수가 모두 평균 1 CFU/mL 미만으로 검출되었고, 대장균은 음성이었다. 더치커피를 보관하는 8주간 일반세균 수가 섭취 가능한 범위인 100 CFU/mL 이하에 속하기 때문에 균으로 인한 유해요소는 존재하지 않았다. Pérez- Martínez et al.(2008)는 90 g의 분쇄한 커피를 90℃의 물 1 L를 넣어 3분간 끓인 커피를 사용하였는데, 산소의 유무에 상관없이 4℃와 25℃에서 60일간 저장하였을 때 호기성의 중온성 세균이 1 CFU/mL 미만으로 검출되어 본 연구의 결과와 유사하였다. Sivetz and Foote(1963)는 수용성 성분이 많고(자유수가 적고), pH가 낮고, 저장 온도가 낮을수록 미생물의 생장이 억제된다고 하였다.

식품공전 중 식품의 규격 및 기준에 의하면 액상커피와 음료류의 세균수는 100 CFU/mL 이하로 기준이 설정되어있다. 식품공전에서 정의한 커피는 ‘커피원두를 가공한 것이거나 또는 이에 식품 또는 식품첨가물을 가한 것으로서 볶은커피, 인스턴트커피, 조제커피, 액상커피<sup>2)</sup>’이다. 식품규격에 명시되어있지 않지만 커피의 세균수 규격은 가열한 물을 이용해 추출하는 커피를 기준으로 설정된 것으로 사료된다. 더치커피는 커피의 식품 유형 중 액상커피에 해당하나 가열하지 않은 제품이기 때문에 가열하지 않고 추출한 커피에 대한 세균 규격을 독립적으로 설정하는 것이 필요할 것으로 보인다. 일례로 음료류 중 가열하지 아니한 제품 또는 가열하지 아니한 원료가 함유된 과채 음료 제품의 경우 세균수는 100,000 CFU/mL 이하로 규정하고 있다. 이와 같이 가열하지 않은 커피에 대한 고려가 필요하겠다.

---

### 2) 커피의 식품유형

- ① 볶은 커피 : 커피원두(100%)를 볶은 것 또는 이를 분쇄한 것
- ② 인스턴트커피 : 볶은 커피의 가용성 추출액을 건조한 것
- ③ 조제커피 : 볶은 커피 또는 인스턴트커피에 식품 또는 식품첨가물을 혼합한 것
- ④ 액상커피(RTD 제품) : 볶은 커피의 추출액 또는 농축액이나 인스턴트커피를 물에 용해한 것 또는 이에 당류, 유성분, 비유크립 등을 혼합한 것

## IV. 요약 및 결론

1. 더치커피의 추출 속도 및 추출 온도에 따른 이화학적, 관능적 특성 및 항산화 활성을 살펴본 결과 추출 온도가 높을수록 산도, 고형분, 갈색도, 총 폴리페놀의 함량 및 항산화 활성이 높고, 추출 속도가 빠를수록 그 값이 낮았으나 대체적으로 유의적이지 않았다. 그 밖에 드립커피는 고형분과 폴리페놀 함량 등이 낮았지만 항산화 활성은 차이가 없었다. 80% 메탄올추출물과 진탕추출물은 차례로 추출 효율이 낮아 기타 성분의 함량과 항산화 활성 등이 낮았다. GCA, QA, caffeine의 함량은 추출 온도와 비례하고 전체적으로 드립커피의 함량보다 높았으나 속도 간의 차이는 없었다. 휘발성 성분은 추출 온도가 낮을수록, 추출 속도가 빠를수록 많았고, 주로 분자량이 작고 휘발이 잘되는 화합물들이 주를 이루었다. 관능평가를 통해 더치커피의 추출 조건에 따른 향미 특성에 대한 강도평가를 한 결과 드립커피에 비해 탄 향, 쓴 맛, 느끼한 맛 등이 낮아 전반적으로 강하지 않고 부드러웠다.

2. 추출 및 저장 조건에 따른 더치커피의 이화학적 특성 및 항산화 활성의 변화를 살펴본 결과 pH와 산도는 저장 온도가 높을수록 각각 감소, 증가 폭이 컸으며, 추출 온도보다 저장 온도의 영향력이 더 컸다. 고형분 함량(%)과 ABTS 항산화 활성은 차이가 없었고, 갈색도와 DPPH 항산화 활성은 증가하였고, 총 페놀 함량은 전반적으로 감소하였다. 저장함에 따라 CGA와 QA는 약간 증가하였고, CA는 초기 함량이 적었던데 비해 급격하게 증가를 보였는데, 이는 CGA lactone와 CGA의 가수분해에 의한 것으로 해석할 수 있다. 잔틴류 중 caffeine은 감소하였으나, theobromine(TB)은 증가하였다( $p < 0.05$ ). 각각 4℃와 20℃에서 8주간 저장하는 동안 일반세균은 1 CFU/mL 미만으로 검출되었고, 대장균은 모두 음성이었다.

결과를 종합해보면 더치커피 추출 시 추출 속도는 빠른 것이 효율적이

며 항산화성을 높이기 위해서는 상온에서, 휘발성 성분의 손실을 줄이기 위해서는 저온에서 추출하는 것이 필요하다. 또한 8주간 저온 및 상온에서 저장한 결과 일반세균 및 대장균이 각각 기준치 이하와 음성으로 나왔기 때문에 위생적인 환경에서 추출한다면 8주간 저장하면서 음용하기에 안전하다고 할 수 있지만 추출 시 위생에 주의가 필요하겠다.



## V. Appendix

Appendix A. The document for recruiting sensory evaluation panels

### 관능검사요원 모집공고

커피를 즐기시는 분들을 위한 관능검사가 곧 진행됩니다. 다양한 고전에서 추출된 더치커피(dutch coffee or cold brew)의 향미를 평가해주실 분들을 모집합니다. 관능검사에 대한 경험이 있고 평소에 미각이 민감하다고 생각하시는 분들 또는 미각 관련 훈련을 해보시고 싶은 분들은 연락 주시기 바랍니다.

- 연구 주제: 더치커피(dutch coffee or cold brew)의 추출 조건에 따른 관능적 특성 분석
- 주관: 식품과학실험실
- 모집인원: 10명
- 대상자: 관능평가 기간 동안 성실하게 참여할 수 있는 사람 누구나
- 기간: 2014년 5월 12일 - 5월 21일(월~금 평일 매일, 총 10일)
- 시간: 오후 1시간 (정확한 시간은 평가요원 모집 후에 결정함)
- 평가항목: 설문지 작성  
관능훈련: 5일  
최종관능평가: 3일
- 지급 조건: 관능검사 및 훈련 날짜 당 5천원 상당의 문화상품권  
총 지급액: 최대 4만원 상당의 문화상품권 (훈련: 4회 이상, 최종관능: 2회 이상 참여시 참여 횟수에 따라 차등지급)
- 연락처: 02-880-5708 (내선 5708, 식품과학실험실)

## Appendix B. Dutch coffee flavor list

### Dutch coffee flavor list

(시료 번호:       )

시료를 맛 본 후에 각각의 맛, 향, 그리고 입안느낌에 해당하는 곳에 / 표시 해주시기 바랍니다.

Smell		
1	Nutty flavor (고소한 향)	Flavor caused by ground roasted grains, Scorched rice teas, sesames, etc. (빵은 볶은 곡물, 승냥, 볶은 참깨 등에서 나는 냄새) 
2	Woody odor (나무 냄새)	Odor caused by wooden materials (원목 등의 목재에서 나는 냄새) 
3	Dark chocolate flavor (다크 초콜릿 향)	Bitter and strong chocolate flavor caused by a dark chocolate (다크 초콜릿에서 나는 쓰고 진한 초콜릿 향) 
4	Tobacco ash odor (담뱃재 냄새)	Odor caused by tobacco ashes or the residue that remains after paper or wooden materials has been burnt (담뱃재 혹은, 종이나 목재가 다 타버린 뒤에 남는 물질에서 나는 냄새) 
5	Acidic flavor (신 향)	Flavor caused by vinegars or citrus fruits (식초나 신 과일 등에서 나는 신 향) 
6	Bitter flavor (쓴 향)	Flavor caused by powdered medicines (가루약에서 나는 쓴 향) 
7	Winery flavor (와인 향)	Acidic and fruity caused by alcoholic drinks made from the fermented juice of grapes (포도주에서 나는 상큼하고 새콤하며 알코올기가 있는 포도 향) 
8	Burnt odor (탄 냄새)	Odor caused by something scorched or burnt (타거나 그을렸을 때 나는 연기 냄새) 

Taste		
1	Nutty taste (고소한 맛)	Taste caused by ground roasted grains, Scorched rice teas, sesames, etc. (뽕은 볶은 곡물, 숯농, 볶은 참깨 등에서 나는 맛)
2	Woody taste (나무 맛)	Taste caused by chewing wooden materials (나무로 만들어진 물질을 씹었을 때 나는 맛)
3	Greasy taste (느끼한 맛)	Taste caused by oil-rich food (기름기가 많아 개운하지 않고 비위에 거슬리는 맛)
4	Dark chocolate taste (다크 초콜릿 맛)	Bitter and strong chocolate taste caused by dark chocolate (다크 초콜릿처럼 쓰고 진한 초콜릿 맛)
5	Sweet taste (단맛)	Taste caused by sugar-rich food such as sugar, honey (꿀이나 사탕, 설탕(물)처럼 당분이 있는 것을 입안에 넣었을 때 감지되는 맛)
6	Astringent taste (떫은맛)	Astringent taste caused by drawing tongue and tissue via green tea or persimmon or by smoking (녹차 또는 떫은 감을 먹을 때 느껴지는 수렴작용이 있는 맛 또는 담배를 피울 때 나는 떫어롭하며 수축되는 맛)
7	Sour taste (신맛)	감귤류 과실류나 식초 등에서 느낄 수 있는 맛 (Taste by citrus fruits of vinegars)
8	Bitter taste (쓴맛)	Taste caused by powdered medicines of caffeine (가루약이나 caffeine이 녹아 있는 물에서 나는 맛)

9	Salty taste (짠맛)	Taste caused by salt or salt solutions (소금이나 소금물을 입에 넣었을 때 느껴지는 맛)
10	Burnt taste (탄맛)	Taste caused by the burnt food (태운 음식에서 나는 맛)
11	Rich taste (풍부한 맛)	Strong and abundant taste (전체적인 맛이 넉넉하고 입안 가득히 나는 맛)
<b>Mouth-feel &amp; Aftertaste</b>		
1	Oily (기름짐)	Greasy and coating mouth-feel (기름기가 많아 미끄럽고 입안이 코팅되는 정도)
2	Body (농도감)	Perception of texture weight of liquid the mouth (밀도가 높고 입안을 꽉 채우며 혀를 누를 듯한 정도)
3	Soft swallowing (부드러운 목 넘김)	Smooth swallowing from mouth to esophagus (커피를 삼킬 때 쉼 없이 않고 매끈하게 잘 넘어가는 정도)
4	Unpleasant-tasting (텁텁함)	Degree of having some unpleasant taste in one's mouth (입안에 상쾌하지 않은 무엇이 남아있는 느낌의 정도)
5	Duration of aftertaste (뒷맛의 지속성)	Degree of remaining aftertaste or time of disappearing it. (뒷맛이 남아있는 정도 또는 사라지는데 걸리는 시간)

## V. 참고문헌

- 관세청. 2013.7. 최근 커피 수입동향
- 김광옥, 김상숙, 성내경, 이영춘. 1993. 관능검사 방법 및 응용. 신광출판사
- 김성한, 이흥민, 이기웅, 장치훈. 2006. Statc Headspace, Purge & Trap 및 Solid-phase Microextraction을 이용한 시판우유의 휘발성 향기성분 분석. 한국식품과학회지 38(6): 738-741
- 이소영. 2004. 커피에 대한 기호도 조사와 시판 커피 중의 알칼로이드 함량에 관한 연구.영남대학교 대학원 석사논문
- 서한석. 2006. 커피의 관능 및 감성평가 방법의 개발과 세분화된 소비자의 커피 선호 유형 분석. 서울대학교 대학원 박사학위논문
- 정동효, 윤백현, 이영희. 2012. 차생활문화대전. 홍익재
- 황성희, 김강성, 강희주, 김민정. 2013. 추출시간에 따른 더치커피 추출액의 페놀성분과 항산화효과의 변화. 대한보건연구 39(2): 21-29
- Afify AEMM, Shalaby EA, and El-Beltagi HS. 2011. Antioxidant Activity of Aqueous Extracts of Different Caffeine Products. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 39(2): 117-123
- Akiyama M, Murakami K, Ohtani N, Iwatsuki K, Sotoyama K, Wada A, Tokuno K, Iwabuchi H, and Tanaka K. 2003. Analysis of volatile compounds released during the grinding of roasted coffee beans using solid-phase microextraction. J. Agric. Food Chem. 51: 1961-1969
- Andueza S, Maeztu L, Pascual L, Ibanez C, de Pena MP, and Cid C. 2003. Influence of extraction temperature on the final quality of espresso coffee. J. Sci. Food Agric. 83(3): 240-248
- Andueza S, Vila MA, Paz de Pena M, and Cid C. 2007. Influence

- of coffee/water ratio on the final quality of espresso coffee. *J. Sci. Food Agric.* 87(4): 586–592
- Brand–Williams W, Cuvelier ME, and Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28: 25–30
- Clark RJ and Vitzthum OG. 2001. *Coffee: recent developments.* Blackwell Science.
- Daniel Ephraim. 2005. Coffee grinding and its impact on brewed coffee quality, *Tea & Coffee Trade J.* pp. 1–4
- Del Castillo MD, Ames JM, and Gordon MH. 2002. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.* 50(13): 3698–3703
- Dooley L, Lee YS, and Meullenet JF. 2010. The application of check–all–that–apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. *Food Qual. Prefer.* 21(4): 394–401
- Giampiero S, Carla DM, Paola P, and Dino M. 2009. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *J. Food Eng.* 90: 74–80
- Gloess AN, Schonbachler B, Klopprogge, B, Lucio D, Chatelain K, Bongartz A, Strittmatter A, Rast M, and Yeretizian C. 2013. Comparison of nine common coffee extraction methods: instrumental and sensory analysis. *Eur. Food Res. Technol.* 236(4): 607–627
- Kim DO, Lee LW, Lee HJ, and Lee CY. 2002. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3713–3717

- KIPRIS. Korean Intellectual Property Rights Information Service (URL; <http://www.kipris.or.kr>, search: 2014.6)
- Kreichbergs V, Dimins F, Mikelsons V, and Cinkmanis I. 2011. Biologically active compounds in roasted coffee. In Conference Proceedings of the 6th Baltic Conference on Food Sci. Technol. FOODBALT-2011: 110–115
- Leon-Carmona JR and Galano A. 2011. Is caffeine a good scavenger of oxygenated free radicals? J. Physic. Chem. 115(15): 4538–4546
- Lentner C and Deatherage FE. 1959. Organic acids in coffee in relation to the degree of roast. J. Food Sci. 24(5): 483–492
- Lopez-Galilea I, Fournier N, Cid C, and Guichard E. 2006. Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure. J. Agric. Food Chem. 54(22): 8560–8566
- Ludwig IA, Sanchez L, Caemmerer B, Kroh LW, De Pena MP, and Cid, C. 2012. Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. Food Res. Int. 48(1): 57–64
- Merritt MC and Proctor BE. 1959. Extraction rate for selected components in coffee brew. J. Food Sci. 24(6): 735–743.
- Naddaf A and Balla J. 2000. Improved Sensitivity of Headspace Gas Chromatography for Organic Aromatic Compounds. Chromatographia Supplement 51: 283–287
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del RD, Salvatore S, Bianchi M, and Brighenti F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. J. Nutr. 133(9): 2812–2819
- Pérez-Martínez M, Sopelana P, de Pena MP, and Cid C. 2008a. Application of multivariate analysis to the effects of additives on chemical and sensory quality of stored coffee brew. J.

- Agric. Food Chem. 56(24): 11845–11853
- Pérez–Martínez, M, Sopelana P, de Pena MP, and Cid C. 2008b. Effects of refrigeration and oxygen on the coffee brew composition. Eur. Food Res. Technol. 227(6): 1633–1640
- Peters A. 1991. Brewing makes the difference. Proc. 14th ASIC Coll., San Fransisco, USA. pp. 97–106
- Ratnayake, WMN, Hollywood R, O'Grady E, and Stavric B. 1993. Lipid content and composition of coffee brews prepared by different methods. Food Chem. Toxicol. 31(4): 263–269
- Rosa MD, Barbanti D, and Lerici CR. 1990. Changes in coffee brews in relation to storage temperature. J. Sci. Food Agric. 50(2): 227–235
- Scmmelroch P and Grosch W. 1995. Analysis of roasted coffee powders and brews by gas chromatography–olfactometry of headspace samples. LWT–Food Sci. Technol. 28(3): 310–313
- Scott R. 2008. The professional baristas handbook: an expert's guide to preparing espresso, coffee, and tea. Coffee Training Centre
- Shams Ardekani MR, Hajimahmoodi M, Oveisi MR, Sadeghi N, Jannatc B, Ranjbar AM, Gholamb N, and Moridi T. 2011. Comparative Antioxidant Activity and Total Flavonoid Content of Persian Pomegranate(*Punica granatum* L.) Cultivars. Iran. J. Pharm. Res. 10(3): 519–524
- Sivetz M and Desrosier NW. 1979. Coffee Technology. Avi Pub Co.
- Sivetz M and Foote HE. 1963. Coffee processing technology. In Coffee process. technol. The Avi Publishing.
- Vallverdú–Queralt A, Arranz S, Medina–Remón, A, Casals–Ribes I, and Lamuela–Raventós RM. 2011. Changes in phenolic content of tomato products during storage. J. Agric. Food Chem. 59(17): 9358–9365



- Vargaftik NB, Volkov BN, and Voljak LD. 1983. International tables of the surface tension of water. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 12(3): 817–820.
- Vignoli JA, Bassoli DG, and Benassi MT. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chem.* 124(3): 863–868
- Vinson JA, Zubik L, Bose P, Samman N, and Proch J. 2005. Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants. *J. Am. College Nutr.* 24(1): 44–50
- Voilley A, Sauvageot F, and Simatos D. 1981. Influence of some processing conditions on the quality of coffee brew. *J. Food Proc. Preserv.* 5(3): 135–143
- Yang DJ, Hwang LS, and Lin JT. 2007. Effects of different steeping methods and storage on caffeine, catechins and gallic acid in bag tea infusions. *J. Chromatogr. A* 1156(1): 312–320
- 林淑瑗, 王聯輝, 林苑暉, 韓伊涵, 王彥翔, and 葉佳聖. 2009. 不同製備法製得啡之抗氧化性及啡因含量 (Antioxidant activity and caffeine content of coffee from different preparation methods). *Taiwanese J. Agric. Chem. Food Sci.* 47(5): 268–275

# Abstract

## A Study on Physicochemical and Sensory Characteristics of Dutch Coffee(Cold brew) Depending on Different Extraction Conditions and Changes of Characteristics during Storage

Yun-Ji, So

Department of Food and Nutrition  
The Graduate School Seoul National University

This study was designed to investigate the changes on antioxidant activities as well as physicochemical and sensory characteristics of Dutch coffee(cold brew) depending on different extraction conditions and storage during 8 weeks.

Dutch coffee was extracted from ground coffee soaked in water of 4°C and 20°C using exclusive instrument. The higher extraction temperature(temp.) was, the higher acidity, solid content, total phenolic content, and antioxidant activities were observed. Dutch coffee extracted with slower extraction rate showed higher values above mentioned, but not significant. Chlorogenic acid(CGA), quinic acid(QA), and caffeine content showed positively and negatively related to extraction temp. and extraction rate respectively. On the other hand, total peak areas of volatile compounds collected by headspace were contrary to other parameters. The extraction conditions, especially extraction rate,

did not affect on sensory characteristics. Compared to drip coffee, Dutch coffee had low intensity of following 8 kinds of attributes: bitter flavor, winery flavor, greasy taste, bitter taste, burnt taste, oily, unpleasant-tasting, and duration of aftertaste, which caused Dutch coffee milder and less oily.

During storage, the decline of pH and increase of acidity were more affected by storage temperature than extraction temp. Brown color and total phenolic content, were different from fresh Dutch coffee, but not quite. ABTS and DPPH radical scavenging activity right after extraction increased as extraction temp. was high, and DPPH radical scavenging activity increased after 2-week. As storage time prolonged, caffeine content decreased by about 10 % at 20°C. The increase of caffeic acid and quinic acid content was caused by hydrolysis of CGA, and CGA content also increased at 20°C due to the hydrolysis of CGA lactone. All samples were found that there were general bacteria less than 1 CFU/mL, which means it is safe to store and drink Dutch coffee within 8 weeks.

**Keywords:** Dutch coffee, Extraction conditions, Storage, Antioxidant activity, Volatile compounds,

**Student Number:** 2012-21493